

# **Untersuchungen zum Zerfall und zur Analytik der Zersetzungsprodukte von Natriumthiosulfat- Injektionslösungen**

**D i s s e r t a t i o n**

zur Erlangung des akademischen Grades

**doctor rerum naturalium**

(Dr. rer. nat.)

im Fach Pharmazie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I der

Humboldt-Universität zu Berlin

von

Gundel Miethe

geboren am 11. Mai 1970 in Guben

Präsident der Humboldt-Universität Berlin

Prof. Dr. Jürgen Mlynek

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Prof. Dr. Michael Linscheid

Gutachter: 1. Prof. Dr. J. Peter Surmann

2. Prof. Dr. Andreas Langner

Tag der mündlichen Prüfung: 04. März 2003



Meinen Eltern

## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Pharmazie der Humboldt-Universität Berlin auf Anregung und unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. J. P. Surmann. An dieser Stelle werde ihm mein herzlichster Dank zuteil für die Überlassung des interessanten Themas zur selbständigen Bearbeitung sowie für seine Unterstützung und Gesprächsbereitschaft.

Für das angenehme Arbeitsklima und die unzähligen kleinen Hilfestellungen, die mir im Laboralltag eine wertvolle Hilfe bei der Lösung vieler Probleme waren, danke ich allen Mitarbeitern meines Arbeitskreises und den Kollegen des Institutes.

Mein besonderer Dank gilt Dr. I. Siebenbrodt und Dr. B. Siefert für die Zusammenarbeit bei der Herstellung der Injektionslösungen, I. Gafron, R. Falkenbach, Dr. H.-P. Hansen und U. Muschick für die Hilfsbereitschaft bei praktischen Arbeiten sowie Ch. Zorn und Dr. P. Witte für ihre Unterstützung in vielerlei Hinsicht und für die vielen anregenden Diskussionen.

Herrn K. Fütting sei für die Schenkung von Natriumthiosulfat-Präparaten gedankt.

Allen, die mich auf dem Weg begleitet, unterstützt und immer ermutigt haben, möchte ich an dieser Stelle nicht vergessen: Die Mitarbeiter des Verbandes der Chemischen Industrie e.V. im Büro Berlin, Prof. Sponer und Dr. Schlitt von der Stiftung zur Förderung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen, die Kollegen der ROCHE Diagnostics GmbH Pharmaceutical Biotech Production Penzberg, die Kollegen der Greifswalder Apotheke und der Schering AG Berlin.

Meinen Eltern und meinen Freunden danke ich für ihr liebevolles Verständnis und ihre stete Unterstützung bei allen Höhen und Tiefen.

# **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b><u>EINLEITUNG</u></b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b><u>THEORETISCHE GRUNDLAGEN</u></b>	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>BEDEUTUNG VON NARIUMTHIOSULFAT-ZUBEREITUNGEN</b>	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>PROBLEMATIK DES ZERFALLS VON WÄSSRIGEN NATRIUMTHIOSULFAT-LÖSUNGEN</b>	<b>14</b>
2.2.1	PRIMÄRE ZERSETZUNG DES THIOSULFATS	14
2.2.2	FOLGEREAKTIONEN DES ZERFALLS	15
<b>2.3</b>	<b>GALENIK UND STABILITÄT VON NATRIUMTHIOSULFAT-INJEKTIONS-LÖSUNGEN</b>	<b>16</b>
2.3.1	PH-WERT ABHÄNGIGER ZERFALL	16
2.3.2	EINFLUSS VON SAUERSTOFFAUSSCHLUSS UND ANTIOXIDANTIEN	17
2.3.3	EINSATZ VON CHELATBILDNERN	17
2.3.4	EINFLUSS DES PRIMÄRPACKMITTELS	18
2.3.5	SONSTIGE MAßNAHMEN UND EINFLUSSFAKTOREN	19
2.3.6	SCHLUSSFOLGERUNGEN	19
<b>2.4</b>	<b>EIGENSCHAFTEN UND REAKTIONEN SCHWEFELHALTIGER ANIONEN</b>	<b>20</b>
2.4.1	BEDEUTUNG DER REAKTIVITÄT	20
2.4.2	HYDROLYTISCHE REAKTIONEN	21
2.4.2.1	Hydrolytische Zersetzung von Thiosulfat	21
2.4.2.2	Einwirkung von Alkalihydroxiden auf Thiosulfat	23
2.4.2.3	Einwirkung von Mineralsäuren auf Thiosulfat	23
2.4.3	OXIDATIVE UND REDUKTIVE REAKTIONEN	27
2.4.3.1	Reaktionen mit Sauerstoff	27
2.4.3.2	Reaktionen mit Metallionen	28
2.4.3.3	Reaktionen mit anderen Redoxpartnern	29
2.4.4	REAKTIONEN SCHWEFELHALTIGER SPEZIES	29
2.4.4.1	Reaktionen von schwefliger Säure mit Thiosulfat	30
2.4.4.2	Reaktionen von Schwefelwasserstoff mit Schwefeldioxid	32
2.4.4.3	Abbaureaktionen der Polythionate	33
2.4.4.4	Reaktionen mit molekularem Schwefel	36
2.4.5	KATALYTISCHE BEEINFLUSSUNG VON REAKTIONEN	36
2.4.5.1	Katalyse der Polythionatbildung	36
2.4.5.2	Katalyse des Zerfalls der Polythionate durch Thiosulfat	37

2.4.5.3	Photokatalyse und sonstige Faktoren	37
2.4.6	SCHLUSSFOLGERUNGEN	38
<b>2.5</b>	<b>ANALYTIK SCHWEFELHALTIGER ANIONEN</b>	<b>41</b>
2.5.1	MÖGLICHKEITEN, PROBLEME UND EINFLUSSFAKTOREN IN DER ANALYTIK	41
2.5.2	CHROMATOGRAPHISCHE VERFAHREN	42
2.5.2.1	Ionenaustauschchromatographie	42
2.5.2.2	Ionenpaarchromatographie	46
2.5.2.3	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	48
2.5.3	ELEKTROPHORETISCHE VERFAHREN	48
2.5.3.1	Kapillarzonelektrophorese	48
2.5.3.2	Isotachophorese	55
2.5.4	POLAROGRAPHIE	56
2.5.5	SONSTIGE VERFAHREN	59
2.5.6	SCHLUSSFOLGERUNGEN	60
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE UND DISKUSSION</b>	<b>62</b>
<b>3.1</b>	<b>ALLGEMEINE VORBETRACHTUNGEN DER UNTERSUCHUNGEN</b>	<b>62</b>
3.1.1	KRITERIEN BEI DER AUSWAHL VON METHODEN	62
3.1.2	KRITERIEN BEI DER HERSTELLUNG VON REALPROBEN	64
<b>3.2</b>	<b>METHODENENTWICKLUNG UND UNTERSUCHUNGEN</b>	<b>69</b>
3.2.1	IONENAUSTAUSCHCHROMATOGRAPHIE	69
3.2.1.1	Vorversuche zur Beurteilung von Trennsystemen	69
3.2.1.2	Parameter der Bestimmung von Sulfit	75
3.2.1.3	Vermessen von Realproben	79
3.2.1.4	Parameter der Bestimmung von Sulfat	81
3.2.1.5	Vermessen von Realproben	84
3.2.2	IONENPAARCHROMATOGRAPHIE MIT UV/VIS-DETEKTION	86
3.2.2.1	Vorversuche zur Charakterisierung der Methode – Polythionatbestimmung	86
3.2.2.2	Methodenentwicklung - Säule RP18 250 x 4 mm	87
3.2.2.3	Parameter der Bestimmung von Polythionaten	94
3.2.2.4	Vermessen von Realproben	96
3.2.2.5	Methodenentwicklung - Säule RP18 125 x 4 mm	98
3.2.2.6	Parameter der Bestimmung	102
3.2.2.7	Methodenentwicklung Säule RPC16Amide 250 x 4 mm	103
3.2.2.8	Parameter der Bestimmung	106
3.2.2.9	Vermessen von Realproben	108
3.2.3	IONENPAARCHROMATOGRAPHIE MIT LEITFÄHIGKEITSDETEKTION	112

3.2.3.1	Methodenentwicklung und Parameter der Thiosulfatbestimmung	112
3.2.3.2	Vermessen von Realproben	116
3.2.4	REVERSED PHASE HOCHLEISTUNGSFLÜSSIGKEITSCROMATOGRAPHIE	117
3.2.4.1	Vorversuche zur Charakterisierung der Methode – Schwefelbestimmung	117
3.2.4.2	Parameter der Schwefelbestimmung	118
3.2.4.3	Vermessen von Realproben	125
3.2.5	KAPILLARELEKTROPHORESE	128
3.2.5.1	Vorversuche zur Beurteilung von Trennsystemen	128
3.2.5.2	Parameter der Bestimmung von Sulfat	163
3.2.5.3	Vermessen von Realproben	167
3.2.6	POLAROGRAPHIE	169
3.2.6.1	Vorversuche zur Methodenentwicklung	169
3.2.6.2	Parameter der Bestimmung von Sulfit	172
3.2.6.3	Vermessen von Realproben	175
3.2.6.4	Parameter der Bestimmung von Thiosulfat	177
3.2.6.5	Vermessen von Realproben	180
3.2.6.6	Parameter der Bestimmung von Sulfid	181
3.2.6.7	Vermessen von Realproben	184
3.2.7	BIAMPEROMETRISCHE GEHALTSBESTIMMUNG VON THIOSULFAT	186
3.2.7.1	Parameter der Bestimmung	186
3.2.7.2	Vermessen von Realproben	187
3.2.8	BESTIMMUNG DER PUFFERKAPAZITÄT DURCH POTENTIOMETRISCHE TITRATION	189
3.2.8.1	Parameter der Bestimmung	189
3.2.8.2	Vermessen von Realproben und pH-Wert Bestimmung	190
3.2.9	PRÜFUNG DER NATRIUMTHIOSULFAT-INJEKTIONSLSÖSUNGEN AUF STERILITÄT	194
3.2.9.1	Prüfung in Flüssigkultur	194
3.2.9.2	Kultur auf Agar	195
3.2.9.3	Übersichtsfärbung / Vitalitätsfärbung mit Methylenblau	195
<b>3.3</b>	<b>VERGLEICH DER METHODEN UND DER STABILITÄTEN DER INJEKTIONSLSÖSUNGEN</b>	<b>196</b>
3.3.1	BEURTEILUNG DER METHODEN	196
3.3.2	BEURTEILUNG DER ZERSETZUNG DER INJEKTIONSLSÖSUNGEN	204
<b>4</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK</b>	<b>213</b>

<b>5</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL</b>	<b>217</b>
<b>5.1</b>	<b>VERWENDETE CHEMIKALIEN UND REAGENZIEN</b>	<b>217</b>
5.1.1	MATERIALIEN FÜR DIE ANALYTIK	217
5.1.2	MATERIALIEN FÜR SYNTHESSEN UND PRÄPARATIVE ARBEITEN	219
5.1.3	MATERIALIEN FÜR DIE AMPULLENHERSTELLUNG	220
5.1.4	UNTERSUCHTE HANDELSPRÄPARATE	221
<b>5.2</b>	<b>VERWENDETE GERÄTE, APPARATUREN UND HILFSMITTEL</b>	<b>221</b>
5.2.1	GERÄTE, APPARATUREN UND HILFSMITTEL DER ANALYTIK	221
5.2.1.1	Kapillarzonelektrophorese	221
5.2.1.2	Ionenaustauschchromatographie	222
5.2.1.3	Ionenpaarchromatographie	222
5.2.1.4	HPLC	222
5.2.1.5	Polarographie	223
5.2.1.6	Titrationverfahren	223
5.2.1.7	IR-Spektroskopie	223
5.2.1.8	UV/Vis-Spektroskopie	223
5.2.1.9	Allgemeine Geräte und Hilfsmittel	224
5.2.2	GERÄTE UND HILFSMITTEL FÜR SYNTHESSEN UND PRÄPARATIVEN ARBEITEN	224
5.2.3	GERÄTE FÜR DIE HERSTELLUNG DER INJEKTIONS-LÖSUNGEN	225
<b>5.3</b>	<b>METHODEN</b>	<b>226</b>
5.3.1	METHODEN DER ANALYTIK	226
5.3.1.1	Methoden der Ionenaustauschchromatographie	226
5.3.1.2	Methoden der Ionenpaarchromatographie	226
5.3.1.3	Methoden der Hochdruckflüssigkeitschromatographie	227
5.3.1.4	Methoden der Kapillarzonelektrophorese	228
5.3.1.5	Methoden der Polarographie	228
5.3.1.6	Titrationverfahren	229
5.3.1.7	Sonstige Verfahren	229
5.3.2	DURCHGEFÜHRTE SYNTHESSEN UND PRÄPARATIVE ARBEITEN	233
5.3.2.1	Synthese von Kaliumpentathionat und Kaliumhexathionat	233
5.3.2.2	Untersuchung der Syntheseprodukte – Polythionate	235
5.3.2.3	Präparation von Schwefelsol („Raffo-Sol“)	237
5.3.2.4	Präparation von Wackenroder'scher Flüssigkeit	238
5.3.2.5	Präparation von Polysulfid-Lösung	238
5.3.3	PROTOKOLLE DER AMPULLENHERSTELLUNG	238



<b><u>ANHANG – TABELLEN</u></b>	<b><u>240</u></b>
---------------------------------	-------------------

<b><u>VERZEICHNIS DER SYMBOLE UND ABKÜRZUNGEN</u></b>	<b><u>268</u></b>
---	-------------------

<b><u>LITERATURVERZEICHNIS</u></b>	<b><u>271</u></b>
------------------------------------	-------------------

## 1 Einleitung

Natriumthiosulfat kommt als hochkonzentrierte Injektions- und Infusionslösung in der Antidottherapie von verschiedenen Vergiftungen, z. B. mit Cyanid, Nitrilen, Halogenen, Lost und alkylierenden Cytostatika zum Einsatz [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8]. Die Möglichkeiten einer entsprechenden Intoxikation sind auf Grund vielseitiger und häufiger Verwendung von Cyanid, cyanidabspaltenden Verbindungen in der Industrie [5, 7], der Gefahr einer Blausäurevergiftung bei Bränden von Kunststoffen und Naturfasern [1, 6] und dem vielfachen Einsatz von alkylierenden Cytostatika in der Medizin [9] gegeben. Auch erscheinen die nach wie vor hohen Lagerbestände an S-Lost-Kampfstoffen in diesem Zusammenhang erwähnenswert [10].

Die Zubereitungen sind im Hinblick auf ihre Stabilität galenisch anspruchsvoll. Über die Probleme des Zerfalls von Natriumthiosulfat in autoklavierten Lösungen wurden bereits berichtet [11, 12]. Die Zersetzung verläuft über Trübungen bis zur Ausfällung von Schwefel und wurde auch bereits bei Handelspräparaten beobachtet [13].

Auf Grund der chemischen Eigenschaften von Natriumthiosulfat und seinen Zersetzungsprodukten ist die Analytik der zerfallsbedingten Probenbestandteile problematisch. Die zum Teil sehr unübersichtlichen Reaktionen schwefelhaltiger Anionen sind durch eine Vielzahl von möglichen reduktiven und oxidativen Prozessen, durch Hydrolyse und weitere Reaktionen untereinander gekennzeichnet, die Mechanismen und Zusammenhänge der Reaktionen sind zum Teil ungeklärt und es existieren unterschiedliche Theorien [14]. Bedingt durch ihre schnelle Oxidation durch Luftsauerstoff ist bei einigen Spezies die Bestimmung häufig erschwert.

Der große Konzentrationsunterschied zwischen Natriumthiosulfat und seinen Zersetzungsprodukten verweist die Bestimmung seiner Zerfallsprodukte in den Bereich der Spurenanalytik. Der Natriumthiosulfat-Überschuss und die chemische Ähnlichkeit der Zersetzungsprodukte schließen eine Reihe von analytischen Möglichkeiten aus, die bei annähernd gleich großen Konzentrationen und geringerem Spektrum zu bestimmender Ionen hervorragend geeignet sind. Durch Massenüberladung und durch resultierende Bandenverbreiterung verringern sich bei chromatographischen und elektrophoretischen Trennverfahren die Effizienz, die Nachweisgrenzen und die Spezifität [15, 16].

Es wurden bereits viele Studien zu Art und Mechanismus der verschiedensten Reaktionen schwefelhaltiger Verbindungen als auch zu den Möglichkeiten ihrer Analytik durchgeführt [14, 17]. Ein wesentlicher Gegenstand dieser Untersuchungen war der Zerfall von Natriumthiosulfat unter Berücksichtigung des pH-Wertes, der Temperatur, der Gegenionen und der Einwirkung verschiedener Säuren, anderer schwefelhaltiger Spezies und Katalysatoren.

Zu Art und Umstand der Zersetzung von hochkonzentrierten Natriumthiosulfat-Injektionslösungen wurden bisher vergleichsweise wenige Untersuchungen durchgeführt. Es wurde z. B. die Abnahme des Gehalts an Natriumthiosulfat nach Autoklavieren unter Berücksichtigung von EDTA-Zusatz, Stickstoffbegasung und pH-Wert mittels einer HPLC-Methode untersucht [12]. Eine Bestimmung der entstandenen Zersetzungsprodukte erfolgte hier nicht. Andere Untersuchungen unter besonderer Berücksichtigung des Primärpackmittels Glas ermitteln ebenfalls eine Abnahme des Gehalts. Es wird die Bildung von Sulfit, Sulfid und Schwefel sowie ein Einfluss von Schwermetallspuren auf die Zersetzung beschrieben [13]. Polythionate wurden in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen bisher nicht nachgewiesen, Sulfid konnte nur bei der forcierten Zersetzung in stark alkalischen Lösungen gefunden werden.

Bei diesen Untersuchungen konnten nicht alle Probleme im Hinblick auf Trennung, Identifizierung und Quantifizierung der Zersetzungsprodukte gelöst werden. So gelang z. B. die Trennung von Sulfit und Sulfat mit der Ionenchromatographie nicht, mit der Ionenpaarchromatographie waren bei Thiosulfat-Überschuss Sulfit und Sulfat ebenfalls nicht trennbar. Für den Nachweis von Polythionaten und Schwefel führten die bisher beschriebenen Methoden ebenfalls nicht zu ausreichenden Selektivitäten und Nachweisgrenzen [12, 13].

In dieser Arbeit wird untersucht, in welchem Umfang die im Spurenbereich auftretenden Zersetzungsprodukte in hochkonzentrierten Natriumthiosulfat-Lösungen mit neuen, optimierten, dem Problem angepassten oder weiterentwickelten Methoden der Instrumentellen Analytik nachgewiesen und quantifiziert werden können. Dabei werden neben den Zersetzungsprodukten auch die Faktoren, die ihre Bildung beeinflussen, betrachtet. Dazu werden gut stabilisierte Handelspräparate und eigene Testzubereitungen mit unterschiedlichen Verunreinigungsprofilen hinzugezogen und die Möglichkeiten und Grenzen der einzelnen Methoden herausgestellt.

## 2 Theoretische Grundlagen

### 2.1 Bedeutung von Natriumthiosulfat-Zubereitungen

Die Verbindung Natriumthiosulfat wurde 1799 von Chaussier entdeckt und fand bereits früher Verwendung als Antidot bei Cyanid-, Arsen-, Iod- und Schwermetallvergiftungen sowie als Salbe bei Psoriasis und Parasiten [18, 19]. Es wird zur Bereitung von Schwefelbädern benutzt und findet vielfach Anwendung in der Maßanalytik, in der Industrie als „Antichlor“ und als „Fixiersalz“ in der Fotografie.

Natriumthiosulfat-Injektionslösungen werden heute als Antidot in der Therapie von Vergiftungen mit Blausäure, Cyanidverbindungen, Cyanhalogeniden, Nitrilen und ebenso bei Verdacht auf Blausäure im Falle einer Rauchgasvergiftung eingesetzt [1]. Es wird auch die Verwendung bei Intoxikationen mit Bromat [8, 11], Iod, Chlor, Brom und aromatischen Nitro- und Aminverbindungen [3, 20] beschrieben. Bei lokaler Verätzung mit Brom können Waschungen, bei oraler Iodaufnahme Magenspülungen vorgenommen werden [21]. Natriumthiosulfat gilt als einzig gesichertes spezifisches Antidot in der Behandlung von Kampfstoffvergiftungen durch S-Lost [10, 22, 23].

Tab. 1: Todesursachenstatistik - Deutschland 1993 bis 1997 im Zusammenhang mit Blausäure- und Nitroprussid-Vergiftungen / Überdosierungen (Quelle: Statistisches Bundesamt Wiesbaden).

Anzahl der Gestorbenen insgesamt nach ausgewählten ICD-9 Positionen (ICD-9, Nr. 989.0 und 972.5)						
ICD-9	Todesursache	1993	1994	1995	1996	1997
989.0	Zyanwasserstoff und Zyanide	26	31	21	19	23
972.5	Sonstige Vasodilatoren	1	1	-	1	-

Weiterhin wird Natriumthiosulfat in der Behandlung möglicher Überdosierungen von Nitroprussid und von alkylierenden Zytostatika vom Lost-Typ, sowie Cisplatin und Carboplatin verwendet [1, 3, 11]. Seit geraumer Zeit etabliert sich der Einsatz von Natriumthiosulfat nicht nur als Antidot, sondern auch als Zellschutz bei der Therapie

mit Cisplatin in der Onkologie zur Verminderung der Nephrotoxizität [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33] sowie zur Senkung der Cyanidkonzentration im Blut zur Verminderung des Intoxikationsrisikos bei Nitroprussid-Dauerinfusionen [34, 35].

Natriumthiosulfat wird in der Notfalltherapie von Cyanidvergiftungen nach einer Injektion eines Methämoglobinbildners wie z. B. 250 mg 4-Dimethylaminophenol, was zu einer Bildung von etwa 30 % MetHb führt [5], mit einer Dosierung von 100 - 500 mg/kg KG appliziert [3]. Teilweise wird auch Natriumnitrit als Methämoglobinbildner eingesetzt [4, 7, 11]. Bei bewusstlosen Patienten kommt Natriumthiosulfat allein zum Einsatz [1]. Cyanid ist ein hochpotentes Stoffwechselgift, welches die enzymatische Zellatmung durch Anlagerung an das dreiwertige Eisen der Ferri-Cytochromoxidase der Atmungskette blockiert. Neben der Cytochromoxidase werden auch viele andere Metallenzyme durch Cyanid gehemmt [5]. Durch Bindung des Cyanids an das dreiwertige Eisen des gebildeten MetHb im Blut wird die blockierte Cytochromoxidase wieder für die Atmungskette zur Verfügung gestellt [7]. Das Cyanid wird durch Übertragung von Schwefel, der aus körpereigenem Cystein gebildet werden oder aus bereitgestelltem Thiosulfat stammen kann, durch das Enzym Rhodanase in Thiocyanat überführt und renal eliminiert [5].

Da bei der Entgiftung des Cyanids die Mobilisierung von Schwefel im Intermediärstoffwechsel der limitierende Schritt ist, kommt der therapeutischen Bereitstellung von mobilem Schwefel in Form von Natriumthiosulfat besondere Bedeutung zu, da damit die Entgiftungskapazität erheblich gesteigert werden kann [4].

Die Antidotwirkung von Natriumthiosulfat bei Vergiftungen bzw. beim therapeutischen Einsatz alkylierender Verbindungen vom Lost-Typ beruht auf der Bildung Bunescher Salze [36]. Die alkylierende und somit DNA-schädigende Wirkung des Lostes im Körper wird dadurch gemindert [10, 22, 23]. Bei einer Vergiftung mit Lost-Verbindungen werden sofort bis zu 500 mg Natriumthiosulfat / kg KG injiziert [3].

Neben diesen Einsatzmöglichkeiten wurde auch die erfolgreiche Behandlung von renaler tubulärer Acidose mit Nephrocalcinose durch Natriumthiosulfat in Kombination mit Natriumbicarbonat und Kaliumgluconat beschrieben [37, 38]. Durch den Einsatz als Magenspüllösung kommt ihm in der Notfallmedizin auch die Bedeutung der Verhinderung von Nachresorptionen bei Ingestion von Cyanid und cyanidabspaltenden Verbindungen zu [7].

Natriumthiosulfat-Injektionslösungen sind vorgeschriebener Bestandteil des Notfallsortiments der Apotheke nach § 15, Anlage 3 der Apothekenbetriebsordnung

[39]. In Deutschland sind derzeit nur die Präparate der Firma Köhler in 10 %iger und 25 %iger Konzentration<sup>1</sup> als Injektions- und Infusionslösungen auf dem Markt. International sind Zubereitungen mit Konzentrationen<sup>1</sup> von 10 %, 15 % und 25 % Natriumthiosulfat erhältlich [40]. Die Monographie des Deutschen Arzneibuchs ist jetzt Bestandteil des Europäischen Arzneibuchs, die United States Pharmacopeia (USP) enthält neben der Substanzmonographie auch eine Monographie mit entsprechenden Anforderungen an Injektionszubereitungen [41, 42, 43].

## **2.2 Problematik des Zerfalls von wässrigen Natriumthiosulfat-Lösungen**

### **2.2.1 Primäre Zersetzung des Thiosulfats**

Natriumthiosulfat-Injektions- und Infusionslösungen sind wässrige Lösungen mit einer Konzentration<sup>1</sup> von 10 g, 15 g oder 25 g Natriumthiosulfat-Pentahydrat in 100 mL Wasser [40]. Es wird beschrieben, dass die wässrigen Lösungen von Natriumthiosulfat bei Luftabschluss und im Dunkeln über einige Monate haltbar sind. Sie zersetzen sich beim Kochen an der Luft [44]. Stehen lassen der Lösung an der Luft führt allmählich zur Zersetzung unter Abscheidung von Schwefel [45]. Die bei Raumtemperatur bereits ablaufende Zersetzung läuft bei höheren Temperaturen schneller ab [46].

Eine wässrige Natriumthiosulfat-Lösung hat einen pH-Wert zwischen 6,9 und 8,4 [11, 45], nach Angaben des Merck Index liegt er zwischen 6,5 und 8,0 [46], der Kommentarband des Deutschen Arzneibuchs gibt für 10 g / 100mL  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  einen pH-Wert zwischen 6,5 und 7,5 an [47]. Wird die Lösung angesäuert, so erfolgt ebenfalls Zersetzung, wobei am häufigsten die Bildung von Schwefeldioxid und die Abscheidung von Schwefel beschrieben worden ist [48, 49, 50].

---

<sup>1</sup> Die kommerziell übliche Konzentrationsangabe für Handelspräparate als x % (abweichend von der IUPAC-Nomenklatur) entspricht x g Natriumthiosulfat-Pentahydrat in 100 mL Wasser (*m/V*).

Untersuchungen ergaben, dass auf diesem Wege auch Polythionate gebildet werden und Sulfat als Zersetzungsprodukt resultiert, wobei hier der genaue Hergang der Reaktionen und die Benennung der Primärprodukte umstritten ist [51, 52, 53, 54]. Bei der hydrolytischen Zersetzung von Thiosulfat-Lösungen konnte die Bildung von Schwefelwasserstoff beobachtet werden [49, 53, 54], im stark sauren Milieu können auch Wasserstoffpolysulfide entstehen [52]. In alkalischen Lösungen scheinen Thiosulfate relativ stabil zu sein, erst bei höheren Temperaturen erfolgt hier die Zersetzung zu Sulfid und Sulfit [55]. Es wurde auch der zersetzungskatalytische und Endprodukt bestimmende Einfluss von Metallionen und Arsenoxid dokumentiert [14, 56, 57].

Thiosulfat ist auch durch sein Reduktionsvermögen gekennzeichnet, es wird selbst erfolgreich als Antioxidans eingesetzt [11, 40]. Während starke Oxidationsmittel, wie Chlor, Brom, Hypohalogenide, Chromat und Permanganat das Thiosulfat bis zur Stufe des Sulfats oxidieren, entsteht bei der Umsetzung mit milden Oxidationsmitteln, wie Iod, Eisen-[III]-, und Kupfer-[II]-Salzen Tetrathionat [14, 58].

### 2.2.2 Folgereaktionen des Zerfalls

Auch die Zersetzungsprodukte des Thiosulfats, insbesondere Sulfid und Sulfit, werden leicht oxidiert [52, 59]. Es erfolgt die Bildung von Sulfat. Sulfid kann mit molekularem Schwefel Polysulfide bilden, die in umgekehrter Richtung der Reaktion wieder zerfallen, Sulfit bildet mit Schwefel Polythionate, die weiter abgebaut werden zu Thiosulfat [60, 61]. Die bei der Zersetzung entstehenden Polythionate stehen wiederum weiteren Reaktionen wie z. B. Sulfitolyse, Hydrolyse und Kettenlängenveränderungen zur Verfügung. Ebenso wird die Synproportionierung von Sulfit und Sulfid zu Schwefel beim Zerfall wässriger Thiosulfat-Lösungen beschrieben [14, 52, 61].

Durch die Vielzahl der Folgereaktionen werden zum Teil einzelne Zerfallsprodukte wieder aus dem Gleichgewicht entfernt, was die Komplexizität des Reaktionsverhaltens andeutet. Einige Zwischenprodukte sind nicht in isolierter Form beständig, verschiedene Reaktionen werden durch Veränderung der Konzentration einzelner Reaktionspartner oder eine pH-Wert Absenkung beeinflusst [14]. Es war nicht möglich, die Zersetzungskinetik und den vollständigen Weg des Zerfalls mit allen resultierenden Intermediär- und Endprodukten bei Natriumthiosulfat-Injektionslösungen aufzuklären. Es wurde in diesem Zusammenhang die Entstehung von Sulfid und Sulfit sowie von Schwefel dokumentiert [12, 13].

## 2.3 Galenik und Stabilität von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen

### 2.3.1 pH-Wert abhängiger Zerfall

Untersuchungen zur Stabilität von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen 15 % bis 50 % haben gezeigt, dass sich die Zubereitungen nach dem Autoklavieren zersetzten, sie entwickelten Trübungen oder Ablagerungen. Ein Zusatz eines Phosphatsalzes konnte den Prozess um 6 bis 12 Wochen hinauszögern, ein Zusatz an Natriumhydrogencarbonat verlängerte diesen Zeitraum auf 12 Wochen [11].

Dem Umstand, dass durch saures Milieu die Zersetzung des Thiosulfats begünstigt wird, wird in vorhandenen Vorschriften zur Herstellung von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen Rechnung getragen. Die Pharmacopoea Helvetica schreibt für die bei 135 °C zu autoklavierenden Lösungen einen pH-Wert von mindestens 8,0 vor [45]. Die USP XVIII forderte einen pH-Wert, der zwischen 8,0 und 9,5 liegt, derzeit wird in der USP ein Soll-pH-Wert zwischen 6,0 und 9,5 angegeben [43, 62]. Stabilitätsuntersuchungen an Lösungen von 25 g / 100 mL Natriumthiosulfat in 0,1 mol/L Phosphatpuffer, die auf pH-Werte von 8,0; 8,5; 8,75 und 9,0 eingestellt und anschließend über verschiedene Zeiträume bis zu 3 h einer Temperatur von 60 °C ausgesetzt wurden, ergaben den geringsten Konzentrationsabfall für pH-Werte zwischen 8,50 und 8,75 [12].

Um die zu autoklavierende Zubereitung auf einen entsprechend alkalischen pH-Wert einzustellen, bestehen prinzipiell zwei Möglichkeiten. Um die Pufferkapazität des Blutes nicht zu überlasten, kann eine einfache Einstellung mit einer Lauge wie Natriumhydroxid vorgenommen werden. Da jedoch durch die thermische Belastung der Sterilisation und im Laufe der Lagerung offensichtlich ein Zersetzungsweg beschritten wird, der eine Absenkung des pH-Wertes zur Folge hat, bewährt sich ein Abfangen der Hydroniumionen durch Puffersysteme in hoher Konzentration aus Kombinationen von schwachen bis mittelstarken Säuren und ihren Salzen wie z. B. ein Phosphatpuffer mit einer pH-Wert-Einstellung durch Lauge. Die Handelspräparate weisen oft durch entsprechende Zusätze eine pH-Wert-Einstellung im alkalischen Milieu auf [3, 63, 64].



### 2.3.2 Einfluss von Sauerstoffausschluss und Antioxidantien

Die Angaben zum Ausschluss von Sauerstoff und dem Einsatz von Stickstoffbegasung sind widersprüchlich. Zum Teil wird eine Stickstoffbegasung als unerlässlich angesehen, um die oxidative Zersetzung zu verhindern [12, 65, 66], andere Untersuchungen deuten darauf hin, dass ein Sauerstoffausschluss ohne Einfluss bleibt [11, 13]. Es wird angemerkt, dass sich eine Stickstoffbeaufschlagung bei der Herstellung oft nicht als ausreichender Oxidationsschutz erweist und somit der Zusatz von Antioxidantien unumgänglich ist [67], da eine Stickstoffbegasung den Sauerstoffgehalt von destilliertem Wasser mit etwa 6,0 mL/L auf nur etwa 1,1 mL/L reduziert.

Es wurde auch gezeigt, dass auf eine Stickstoffbegasung verzichtet werden konnte, um ausreichende Stabilität der Lösungen zu erhalten, indem der Ansatz vor Abfüllung und Autoklavierung stehengelassen und somit eine Oxidation vorhandenen Sulfits, die Abscheidung von Schwermetallen als Sulfide sowie die Synproportionierung von Sulfid mit Sulfit zu Schwefel erreicht wurde. Ein Erwärmen des Ansatzes beschleunigt den Prozess, ein anschließendes Abfiltrieren abgeschiedenen Schwefels wird vorgenommen [66]. Es wurde hierbei und bei einer weiteren Studie festgestellt, dass bei gewisser Ausgangsbelastung mit Sulfit eine stärkere Zersetzung nach dem Autoklavieren zu beobachten ist [13, 66]. Dieser Beobachtung widerspricht, dass in Handelspräparaten Natriumbisulfit erfolgreich als Antioxidans zugesetzt wird [3, 65].

### 2.3.3 Einsatz von Chelatbildnern

Viele Schwermetallionen wie z. B.  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  und  $\text{Mn}^{2+}$  haben eine katalytische Wirkung auf die Zersetzung von Arzneistoffen, auch wenn sie nur im Spurenbereich vorliegen. Sie wirken als Initiator von Redoxreaktionen, da sie im Stande sind, als Radikal und Elektronenüberträger zu fungieren. So können sie direkt mit Sauerstoff reagieren oder einen Komplex bilden und letztlich ein Sauerstoffradikal oder Peroxidradikal erzeugen oder direkt mit dem Arzneistoff reagieren [65].

Um vorhandene Schwermetallspuren, durch Chelatbildung zu maskieren, sind EDTA-Zusätze in der Galenik üblich. [65, 67, 68]. Während in der Herstellung von Handelspräparaten darauf zurückgegriffen wird [3], existieren auch hier widersprüchliche Aussagen. So konnte in einer vergleichenden Untersuchung keine Erhöhung der Stabilität von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen durch EDTA-Zusatz

gefunden werden [12]. Andere Untersuchungen beschreiben eine Förderung der Zersetzung durch Ablösen von adsorbierten Schwermetallen von der Oberfläche und sogar Herauslösen aus oberen Schichten des Ampullenglases durch EDTA. Es wird beschrieben, dass Schwermetalle auch in komplexierter Form zersetzungskatalytisch wirken [13, 66].

### **2.3.4 Einfluss des Primärpackmittels**

Da eine erhöhte Zersetzungsrate von wässrigen Natriumthiosulfat-Lösungen bei Lichtexposition durch photokatalytische Prozesse nicht ausgeschlossen werden kann, wird eine Lagerung unter Lichtausschluss empfohlen [12, 44]. Unter Umständen ist eine Beteiligung von Photosensitizern ausschlaggebend [65], da das Absorptionsmaximum von Thiosulfat bei 214 nm liegt und oberhalb 280 nm keine Lichtabsorption zu verzeichnen ist.

Kontrovers wird die beobachtete pH-Wert Absenkung in Ampullen mit hochkonzentrierten wässrigen Salzlösungen diskutiert. Es wurde die Möglichkeit beschrieben, dass durch Kationenaustausch von Natriumionen gegen Säureäquivalente des Glases eine Absenkung des pH-Wertes erfolgt [13, 69], dem gegenüber wird als Ursache ein pH-Wert Abfall durch gelöste, saure, gasförmige Verunreinigungen, die durch das Abfüllen oder durch die Flammengase beim Abschmelzen in die Ampulle gelangen, angegeben [70].

Speziell für den Fall des Natriumthiosulfats wurde eine geringe, jedoch signifikante Absenkung des pH-Wertes dokumentiert [13, 66], wobei auch hier zum Vorhandensein eines „Säurefehlers“ des Glases abweichende Thesen existieren. Für eine Absenkung des pH-Wertes ist hierbei auch eine unter geeigneten Bedingungen durch Zersetzung steigende Hydroniumionen-Konzentration in Betracht zu ziehen [14, 66].

Die Präparate der Fa. Köhler werden z. B. in Braunglasampullen abgefüllt. Diese weisen einen Transmissionsanstieg ab etwa 350 nm auf, im Vergleich dazu steigt die Transmissionskurve bei Klarglasampullen ab 280 nm an. Der Einsatz dieses eisenoxidhaltigen Ampullenglases verursacht offensichtlich keine Stabilitätsminderung.

### 2.3.5 Sonstige Maßnahmen und Einflussfaktoren

Bei einigen Handelspräparaten ist Natriumchlorid zugesetzt [3]. Zu einer Auskunft über den Zweck war die Firma nicht bereit. Es lässt sich vermuten, dass durch den Elektrolyten eine Stabilisierung des Solzustandes von kolloidem Schwefel erreicht und somit die Ausfällung verhindert werden soll, da geringe Elektrolytmengen den kolloiden Schwefel stabilisieren könnten [67]. Da die Menge an NaCl unbekannt ist, wäre auch der gegenteilige Effekt als Ziel denkbar. Da die Schwefelausfällung z. B. durch die stabilisierende Mizellbildung von höherkettigen Polythionaten zeitverzögert erfolgt, wäre dann eine sofortige Erkennung der Zersetzung an Hand des Niederschlags möglich [52, 71]. Nicht uninteressant ist die Möglichkeit, dass die Zersetzung auch durch geringe mikrobielle Kontamination eingeleitet oder beschleunigt werden könnte. Es wurde eine Vielzahl von Bakterien beschrieben, die Thiosulfat und andere schwefelhaltige Anionen in ihren Stoffwechsel einschleusen. So besitzt *E. coli* eine hohe Kapazität, Thiosulfat zu Sulfid zu reduzieren. Diese Eigenschaft besitzen auch *Streptococcus faecalis* und *Citrobacter freundii* [72]. Verschiedene Spezies sind in der Lage, neben Thiosulfat insbesondere Polythionate abzubauen [73].

### 2.3.6 Schlussfolgerungen

Die Vielzahl der zersetzungsfördernden Parameter verdeutlicht bereits die Problematik dieser Zubereitungen. Trotz angegebener relativ guter Lagerfähigkeit reiner wässriger Lösungen reicht diese Stabilität bei Injektionszubereitungen, die genügende pharmazeutische Qualität aufweisen müssen, nicht aus. Die Notwendigkeiten, einen konstanten Gehalt und Partikelfreiheit zu gewährleisten sowie den mikrobiologischen Anforderungen zu entsprechen, erfordern eine hohe Langzeitstabilität der Zubereitung. Die Reaktionsbereitschaft des Natriumthiosulfats und seiner Zersetzungsprodukte sowie besonders die Förderung der Zersetzung durch hohe Temperaturen, die die Sterilisation erfordert, wirken diesem Bestreben entgegen. Die heute auf dem Markt befindlichen Injektionslösungen weisen auf Grund anspruchsvoller Galenik unter Berücksichtigung aller stabilitätsfördernder Maßnahmen, wie pH-Wert-Einstellung über pH 8, eventuell Pufferung, hohe mikrobielle Reinheit, Lichtschutz durch Braunglasampullen, bei einigen Zubereitungen auch Antioxidantien- und EDTA-Zusatz eine hohe Langzeitstabilität von 36 Monaten auf [74, 75].

## 2.4 Eigenschaften und Reaktionen schwefelhaltiger Anionen

### 2.4.1 Bedeutung der Reaktivität

In der Literatur ist eine Vielzahl von Reaktionen schwefelhaltiger Ionen untereinander, mit molekularem Schwefel und mit anderen Spezies beschrieben. Dadurch resultiert auch eine hohe Zahl von möglichen Zwischen- und Endprodukten bei der Zersetzung von Natriumthiosulfat sowie sich anschließender Folgereaktionen, wobei einige Reaktionsmechanismen noch nicht vollständig aufgeklärt sind oder unterschiedlich interpretiert werden [14, 52, 59, 60, 61].

Schwefelverbindungen sind in allen Oxidationsstufen von -2 bis +6 bekannt. Innerhalb eines Ions können unterschiedliche Wertigkeiten auftreten und der Schwefel kann sowohl ionisch als auch kovalent gebunden sein [44, 60, 61]. Von Bedeutung für die Problematik sind die Eigenschaften und Reaktionen des Schwefels, der Schwefeloxide, der elf existierenden Schwefel-Sauerstoff-Säuren [allgemeine Formeln  $\text{H}_2\text{SO}_n$  ( $n = 2-5$ ) und  $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_n$  ( $n = 2-8$ )] und deren Salze, der Polysulfandisulfonsäuren ( $\text{H}_2\text{S}_n\text{O}_6$ ) und deren Salze (Polythionate), der Polysulfanmonosulfonsäuren ( $\text{H}_2\text{S}_n\text{O}_3$ ) und deren Salze als auch der Wasserstoffverbindungen des Schwefels wie Schwefelwasserstoff und Polysulfane ( $\text{H}_2\text{S}_n$ ) und der Sulfide und Polysulfide. Einige Verbindungen werden bei eingehender Betrachtung nicht mehr als potentielle Zwischen- und Endprodukte des Zerfalls in Betracht kommen, da die geeigneten Bedingungen für eine Entstehung in den wässrigen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen nicht gegeben sind.

Da bei den bekannten Zerfallsreaktionen des Thiosulfats zu Sulfit / Schwefeldioxid und Schwefelwasserstoff / Sulfid, Schwefel und Polythionaten bereits Verbindungen aus den Klassen der Schwefeloxide, Schwefel-Sauerstoffsäuren, Schwefel-Wasserstoff-Verbindungen und Polysulfandisulfonsäuren als auch molekularer Schwefel selbst entstehen und es sich bei der Zubereitung um eine wässrige Lösung handelt, ist die Voraussetzung für die Entstehung weiterer Verbindungen dieser Gruppen gegeben. Es muss mit dem Abbau dieser Verbindungen und mit dem Auftreten von Zwischenprodukten im Spurenbereich gerechnet werden. Bei der Auswahl und Entwicklung der

analytischen Methoden muss sowohl der Vielzahl von Zersetzungsprodukten als auch den unterschiedlichen und oft geringen Konzentrationen Rechnung getragen werden.

Da die Injektionslösungen hoch konzentriert sind, werden Verdünnungen im analytischen Verfahren notwendig. Dadurch kann es zu neuen Reaktionen und zur verstärkten Oxidation durch Luftsauerstoff kommen. Bei leicht oxidierbaren Spezies kommt es zu einer Beeinträchtigung der Analytik, so dass eine Stabilisierung des Analyten, sofern möglich, sinnvoll ist. Inkompatibilitäten mit Eluenten, Pufferkomponenten und Geräteteilen sind nicht auszuschließen. So besteht die Möglichkeit der Zersetzung von Thiosulfat durch einen sauren pH-Wert bei der Polarographie und die der Oxidation von Sulfit durch den in der Kapillarelektrophorese üblichen Chromatelektrolyten. Es wurden bereits Adsorptionsphänomene von Sulfid an Glas und Kunststoff beschrieben [66]. Die Bildung von Schwermetallsulfiden limitiert die Verwendbarkeit von Metallgeräten.

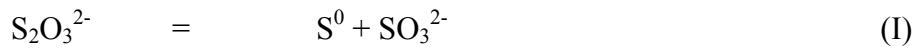
Bei der Entwicklung von Methoden für eine Analytik mehrerer schwefelhaltiger Anionen nebeneinander müssen Reaktionen der Spezies untereinander berücksichtigt werden. So erfolgt im Gemisch von Sulfit und Polythionaten der Abbau der Polythionatschwefelketten durch Sulfit. Bei Aufstockung mit Sulfid oder Polysulfiden erfolgt eine Ausfällung von Schwefel. Bei der Suche nach einem geeigneten internen Standard muss ebenfalls eine mögliche Interaktion in Betracht gezogen werden. Im Folgenden wird auf einige wichtige Reaktionen und Zusammenhänge eingegangen.

## **2.4.2 Hydrolytische Reaktionen**

### **2.4.2.1 Hydrolytische Zersetzung von Thiosulfat**

Da die Natriumthiosulfat-Injektionszubereitungen wässrige Lösungen sind, kommen hydrolytische Zersetzungsreaktionen in Frage. Für die Art der Zersetzung und die Lage des Gleichgewichts ist auch hier die Hydroniumionen-Konzentration von Bedeutung. Die direkte Einwirkung von Mineralsäuren und Alkalihydroxiden soll später besprochen werden. Die Abnahme der Leitfähigkeit und Titerveränderungen von wässrigen Thiosulfat-Maßlösungen wurden mit Hydrolyseerscheinungen in Verbindung gebracht [76]. Eine häufige Beobachtung in diesem Zusammenhang ist die Ausbildung einer Opaleszenz und die Abscheidung von Schwefel. Untersuchungen zur hydrolytischen

Zersetzung ergaben, dass ein Zerfall in Schwefel und Sulfit stöchiometrisch gemäß Gleichung (I) stattfindet, der in saurer Lösung fast vollständig abläuft, in wässriger Lösung jedoch erst bei höheren Temperaturen deutlich zu bemerken ist [14]. So wurde bei mehrtägigem Erhitzen einer Thiosulfat-Lösung auf 105 °C eine Hydrolyse festgestellt [56].

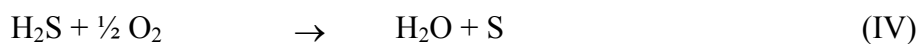


Dieser Vorgang tritt besonders in Gegenwart von  $\text{Ca}^{2+}$ , begünstigt durch Bildung des schwerlöslichen  $\text{CaSO}_3$ , auf. In schwach sauren Lösungen kommt es zur Einstellung eines Gleichgewichts, in alkalischen Lösungen erfolgt anschließend eine Umsetzung des frisch gebildeten Schwefels zu Sulfid und Sulfit, so dass nur diese Ionen nachweisbar sind.

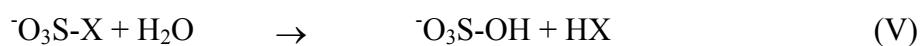
Eine hydrolytische Zersetzung nach Gleichung (II) unter Bildung von Schwefelwasserstoff und Sulfat erfolgt bevorzugt in Gegenwart von Kationen, die schwerlösliche Sulfide bilden, sie wurde aber auch in Lösungen von Alkalithiosulfaten beobachtet. Im Zuge der Zersetzung wurde oft eine pH-Wert Absenkung festgestellt [14].



Auf Grund der resultierenden Zersetzungsprodukte wurde auch ein Zerfall in Sulfit und Schwefel mit anschließender Oxidation des Sulfits zu Sulfat durch Luftsauerstoff in Betracht gezogen [14]. Die Opaleszenz frisch bereiteter Thiosulfat-Lösungen soll durch eine Zersetzung entsprechend Gleichung (III) mit anschließender Oxidation gemäß (IV) verursacht werden. Bekräftigt wird diese Annahme durch die Tatsache, dass ein Geruch nach  $\text{H}_2\text{S}$  wahrnehmbar ist, auch wenn es analytisch noch nicht nachweisbar ist [53].

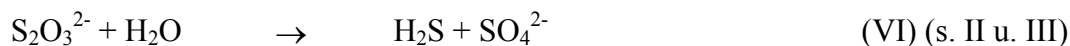


Es wird berichtet, dass in konzentrierten Natriumthiosulfat-Lösungen stets  $\text{H}_2\text{S}$  gebildet wird, selbst wenn nur Wasser einwirkt [54, 77]. Die Hydrolyse von Verbindungen des Typs  $\text{O}_3\text{S-X}$ , wie z. B. Thiosulfat  $\text{O}_3\text{S-S}^-$ , verläuft nach Gleichung (V).

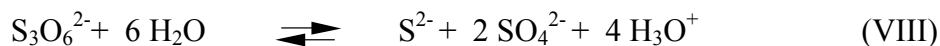
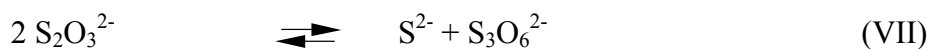


Demnach erfolgt für  $\text{X} = \text{S}^{2-}$  die Hydrolyse von Thiosulfat zu Hydrogensulfid und Hydrogensulfat, die Reaktionsgeschwindigkeit ist abhängig von der Abgangsgruppe, für  $\text{X} = \text{S}^{2-}$  ist sie nach anderen Beobachtungen sehr klein, so wurde erst bei 270 °C im

geschlossenen Bombenrohr eine Hydrolyse entsprechend Gleichung (VI) beobachtet [61].



Beim Kochen von Schwermetallthiosulfaten in Wasser wird vor Sulfat zunächst Trithionat und Sulfid beobachtet (stöchiometrisch nach VII und VIII) [54]. Das wurde auch für schwach alkalisch reagierenden Lösungen von Alkalithiosulfat bestätigt.



#### 2.4.2.2 Einwirkung von Alkalihydroxiden auf Thiosulfat

Beim Erhitzen mit hochkonzentrierter Natronlauge entsteht, wie in Gleichung (IX) formuliert, Sulfid und Sulfat, jedoch kein Sulfat [55].



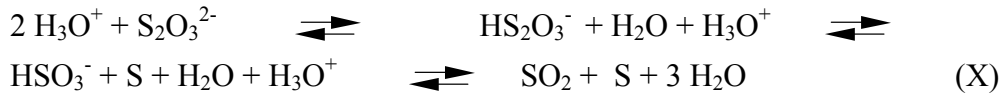
Es wurde untersucht, dass in alkalischer Thiosulfat-Lösung keine merkliche Dissoziation bei Raumtemperatur gemäß Gleichung (I) erfolgt und dass der bei 95-100 °C in gesättigter Lösung rasch stattfindende Austausch des Sauerstoffs zwischen Thiosulfat und Wasser durch 0,2 mol/L NaOH vollständig unterbunden wird [14]. Ein NaOH-Zusatz wird deshalb zur Stabilisierung von Natriumthiosulfat-Lösungen empfohlen [76].

#### 2.4.2.3 Einwirkung von Mineralsäuren auf Thiosulfat

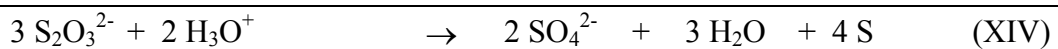
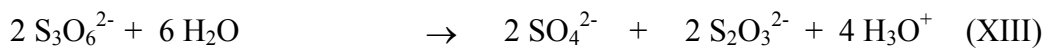
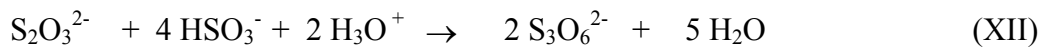
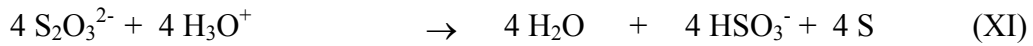
Im Falle der Injektionslösung ist eine pH-Werte Verschiebungen durch gelöstes Kohlendioxid aus der Luft oder aus den Brennergasen bei der Ampullierung [70], aber auch durch Zersetzungsreaktionen der schwefelhaltigen Ionen möglich [14]. Es wurde bereits auf die Theorie der Abgabe von Säureäquivalenten aus Ampullenglas eingegangen [69].

Da die Schwefelabscheidung bei Säurezusatz zu Thiosulfat-Lösungen nicht sofort einsetzt, nimmt man die Bildung von Thioschwefelsäure  $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$  oder in verdünnten Lösungen  $\text{HS}_2\text{O}_3^-$  als Intermediärprodukt an. Die Zersetzung der Thioschwefelsäure erfolgt nach heutigen Erkenntnissen über mehrere Zwischenstufen, wobei hier der genaue Mechanismus weiterhin ungeklärt ist und unterschiedlich interpretiert wird.

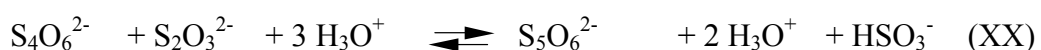
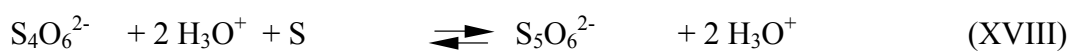
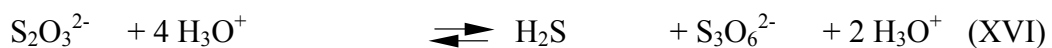
Ausdruck der Instabilität ist auch, dass Thioschwefelsäure in freier Form nicht isolierbar ist. Es existiert keine Reihe saurer Salze vom Typ  $\text{MHS}_2\text{O}_3$  [14, 52], ausgenommen Ammoniumhydrogenthiosulfat. Die Hauptreaktion des Zerfalls entspricht vereinfacht dem Schema der Gleichung (X). Als Konkurrenzreaktion zu diesem Zerfall steht die Bildung von Polythionaten, auch im schwach sauren pH-Bereich [14].



Der Endzustand schwach angesäuerter Thiosulfat-Lösungen deutet auf eine Bildung von  $\text{SO}_2$ ,  $\text{S}_0$  und  $\text{SO}_4^{2-}$  hin, wobei kontroverse Ansichten über die Herkunft des Sulfats bestehen. Je nach Hydroniumionen-Konzentration wird die Bildung von entweder  $\text{SO}_2$  und  $\text{S}_0$  oder  $\text{SO}_4^{2-}$  und  $\text{H}_2\text{S}$  postuliert [14]. Nach Foerster und Center erfolgt die Bildung von Sulfat beim Zerfall schwach saurer Lösungen bei hohen Temperaturen gemäß den Gleichungen (XI) bis (XIV) [51].

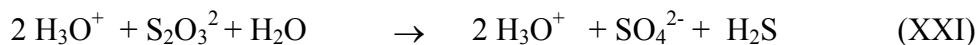


Nach Bassett und Durrant stammt Sulfat aus dem Zerfall von primär gebildetem Trithionat [54] und nie direkt aus der Hydrolyse von Thiosulfat, da das Gleichgewicht nicht durch Zusatz von Sulfationen oder Bariumionen beeinflussbar sei. Sie nehmen verschiedene Wege der Zersetzung von Thiosulfat in saurem Milieu an, wie in den Gleichungen (XV) bis (XVI) dargestellt. Neben der Bildung von Trithionat und Schwefelwasserstoff entstehen auch Sulfit und Schwefel. Dadurch sollen in Folgereaktionen durch Schwefel nach den Gleichungen (XVII) und (XVIII) sowie mit Thiosulfat nach den Gleichungen (XIX) und (XX) Tetra- und Pentathionat entstehen. Es soll sich bei dem Zerfall um ein pH-Wert abhängiges Gleichgewicht handeln.





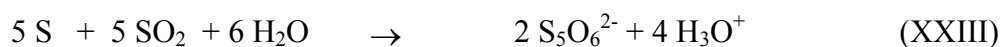
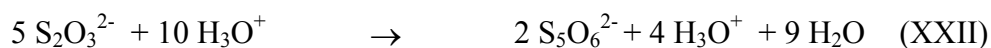
Dementsprechend und in Einklang mit den Gleichungen (XI) bis (XIV) ist Sulfat nur dann zu erwarten, wenn intermediär Trithionat auftritt. Andere Autoren wiederum beschreiben bei der quantitativen Zersetzung von Thiosulfat in Salzsäure Schwefelwasserstoff und Schwefelsäure als Endprodukte (XXI) [14].



Es wird auch die Auffassung vertreten, dass das beim Ansäuern von Thiosulfat auftretende  $\text{H}_2\text{S}$  charakteristisch für Reaktionen ist, die zur Bildung von Polythionaten führen, wie in der Gleichung (XVI) dargestellt [14]. Durch Katalysatoren, wie Arsentrioxid, lässt sich die Reaktion in diese Richtung lenken [77, 78].

Colefax [50] fand bei der sauren Zersetzung von Thiosulfat keine Pentathionsäure in den Endprodukten, Vaubel [49] konnte in diesem Zusammenhang Pentathionsäure identifizieren. Es gibt abweichende Meinungen, ob in saurer Lösung primär Trithionat Tetrathionat, Pentathionat oder Hexathionat gebildet wird und die Polythionate anderer Kettenlänge durch Aufschwefelung und Kondensationsreaktionen oder Sulfitabbau, Schwefelabspaltung und Hydrolyse entstehen [14, 51, 54, 79, 80, 81]. Optimale Bedingungen für die Bildung von Polythionaten als Konkurrenz zum Zerfall in S und  $\text{SO}_2$  liegen offensichtlich in stark saurer Lösung vor, sie findet aber auch in schwach saurer Lösung, mit sinkender Reaktionsgeschwindigkeit zum Neutralpunkt hin, statt.

Andere Untersuchungen kommen zu der Schlussfolgerung, dass die Zersetzung von Thiosulfat im sauren Medium gemäß der Gleichung (XXII) [82] oder die Reaktion von frisch gebildetem Schwefel mit dem gebildeten Sulfit nach Gleichung (XXIII) [83] zu Pentathionsäure führen.



Die Entstehung von Polythionaten ist somit indirekt pH-Wert abhängig, da die vorhandene Hydrogensulfitmenge durch die Hydroniumionen-Konzentration beeinflusst wird [14]. Im schwach sauren Milieu sind alle Reaktionsteilnehmer lange nachweisbar. In schwach angesäuerten Lösungen finden sich nach 6 - 8 Monaten noch Thiosulfat, Trithionat, Tetrathionat und Pentathionat, da Zersetzung und Regeneration langsam ablaufen [84].

Es wird diskutiert, dass die direkte Umsetzung von gebildetem  $\text{SO}_2$  mit unverändertem Thiosulfat zu Trithionat führt, durch dessen Zersetzung dann Sulfat und wieder Thiosulfat (Regeneration) entstehen. Eine andere Theorie postuliert die Bildung von

$\text{S(OH)}_2$ , was in saurer Thiosulfat-Lösung über Folgereaktionen mit Hydrogensulfit zu Trithionat und weiteren Polythionaten führen könnte (s. auch 2.4.4.1) [14, 85].

Bei der Herstellung von Raffa Sol wirkt verdünnte Schwefelsäure auf eine konzentrierte Thiosulfat-Lösung. Es soll sich letztlich um eine Reaktion von zunächst gebildetem  $\text{H}_2\text{S}$  und  $\text{SO}_2$  handeln, die zur Entstehung von Polysulfiden, kolloidem Schwefel und Pentathionsäure führen. Die Pentathionsäure ist an molekularem Schwefel adsorbiert und hält ihn dadurch in Lösung. Kleine Elektrolytmengen stabilisieren den Schwefel, bei längerem Stehen kristallisiert er aus [14, 86, 52].

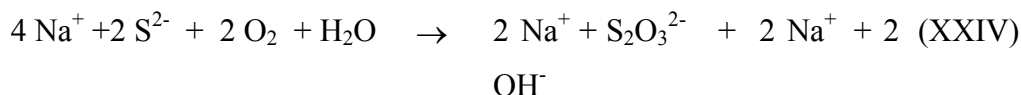
Nach Untersuchungen von Raffa Sol durch Steudel et al [71] besteht das Sol des Schwefels nach Peptisation in  $\text{H}_2\text{O}$  aus molekularem Schwefel, hauptsächlich  $\text{S}_8$ , aber auch  $\text{S}_6 - \text{S}_{14}$  und langkettigen Polythionaten. Die Polythionate bilden Mizellen und schließen den Schwefel ein (auch Odén oder La Mer Sol). Frisch präparierte Sole sind frei von Polythionaten mit 3 - 6 Schwefelatomen, bei Alterung erfolgt eine Zunahme kurzkettiger Polythionate und Kristallisation von  $\text{S}_8$ . Die Solpartikeln bestehen aus negativ aufgeladenen Mizellen von höheren Polythionaten mit besagtem Einschluss von Schwefel und sind durch  $\text{HCl}$ ,  $\text{LiCl}$  und  $\text{NaCl}$  reversibel fällbar,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{NH}_3$  und Thiosulfat zerstören das Sol durch Schwefelfällung. Weitz et al nahmen an, dass langkettige Polythionate mit einer Kettenlänge von 40 - 140 Schwefelatomen die Mizellen ohne Schwefeileinschluss bilden [86, 87, 88]. Eine Untersuchung des entsprechenden Sols ergab, dass Polythionate mit 5 - 19 Schwefelatomen sowie Schwefeldioxid und Thiosulfat enthalten sind. Das durch Fällung und durch Peptisation erhaltene Schwefelsol enthielt molekularen Schwefel  $\text{S}_n$  mit  $n = 6 - 17$ , hauptsächlich  $\text{S}_8$  und  $\text{S}_7$ , bei Alterung erfolgte eine Zunahme an  $\text{S}_8$  und eine Veränderung der Polythionatzusammensetzung mit vorherrschender Zunahme von Hexathionat bis Tetrathionat, geringer Thiosulfatbildung und Schwefelausfällung. Eine Mizellbildung erfolgt nur durch langkettige Polythionate, nicht durch kurzkettige.

Eine Untersuchung zum Umsatz von Thiosulfat mit angesäuerten Oxidationsmitteln, z. B. konzentriert salzsauren Lösungen von Iod, kam zu dem Resultat, dass die saure Zersetzung eine starke Konkurrenzreaktion zur Oxidation des Thiosulfats darstellt [89].

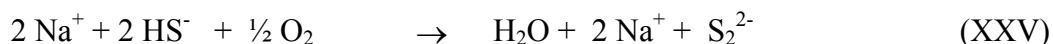
## 2.4.3 Oxidative und reduktive Reaktionen

### 2.4.3.1 Reaktionen mit Sauerstoff

Als mehr oder weniger starke Reduktionsmittel können Thiosulfat, Sulfit, schweflige Säure, Sulfid und Schwefelwasserstoff leicht Oxidationsvorgängen erliegen. So wird z. B. festes Calciumsulfid beim Lagern an der Luft zu Thiosulfat oxidiert. Sulfat weist Mesomerie bedingt eine hohe Stabilität auf, so dass viele Verbindungen das Erreichen der Oxidationszahl +6 anstreben und Sulfat ein häufiges Endprodukt bei der Oxidation schwefelhaltiger Anionen ist [52]. Auch Hydrogensulfit wird in Lösung an der Luft oxidiert. Häufig können diese Reaktionen durch Schwermetalle katalysiert werden [44]. Ebenso werden Lösungen von Schwefelwasserstoff leicht durch Luftsauerstoff unter Schwefelabscheidung oxidiert. Die Oxidation von Sulfiden durch den Sauerstoff der Luft führt primär zu Thiosulfat gemäß Gleichung (XXIV) [52]. Der Verlauf und Reaktionsgeschwindigkeit der Autoxidation von  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$  und  $\text{S}^{2-}$  ist konzentrationsabhängig [90], so dass gelöste Sulfide leicht oxidiert werden und selbst stark reduzierend wirken. Dies beruht auf der geringen Bindungsaffinität von  $\text{S}^{2-}$  [52].



Neben der Tatsache, dass Alkalisulfidlösungen unter Polysulfidbildung Schwefel aufnehmen können, erfolgt beim Stehen an der Luft durch die Oxidation der Hydrogensulfidionen die Bildung von Polysulfiden analog der Gleichung (XXV) [52].



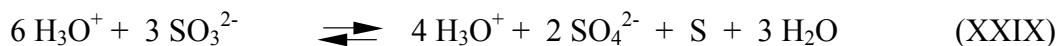
Auch Polysulfide werden durch Luftsauerstoff zu Thiosulfat und Schwefel entsprechend Gleichung (XXVI) oxidiert, was auch technische Bedeutung erlangte. Allgemeiner ist der Vorgang in der Gleichung formuliert (XXVII), wobei nach Untersuchungen von Steudel et al die Autoxidation von wässrigen Natriumpolysulfidlösungen zu Thiosulfat und Schwefel führt, jedoch im Gegensatz zu anderen Beobachtungen kein Sulfat, kein Sulfit und keine Polythionate gebildet werden [52, 91].



Auch Sulfite werden sehr leicht zu Sulfat oxidiert (XXVIII), da sie das Bestreben haben, in die Oxidationsstufe +6 überzugehen. In wässriger Lösung sind sie autoxidabel [14, 52, 59], ebenso wie Bisulfit-Lösungen [54].



Schwefelige Säure unterliegt bei Abwesenheit von Luft der Autoxidation, die auch als Disproportionierung aufgefasst werden kann, wobei diese Veränderung stöchiometrisch mit der Gleichung (XXIX) beschrieben wurde und durch Temperaturerhöhung und Licht gefördert wird. Bei Alterung sollen auch Tri- und Tetrathionat zu finden sein [54].

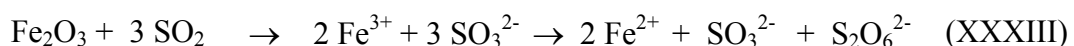
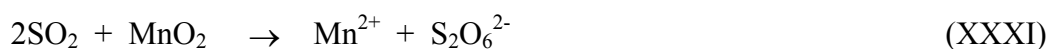


Die Tatsache, dass konzentrierte Thiosulfat-Lösungen alkalisch reagieren, wurde mit der Bildung von Tetrathionat durch Oxidation an Luft und damit einhergehender Entstehung von  $\text{OH}^-$  analog Gleichung (XXX) in Verbindung gebracht [14, 92]. In Thiosulfat-Maßlösungen wurde Tetrathionat gefunden, wobei eine Steigerung der Polythionatbildung nach Impfung mit verschiedenen Bakterien zu verzeichnen war, es wurde aber auch Tetrathionat in Vergleichsproben nachgewiesen [53].

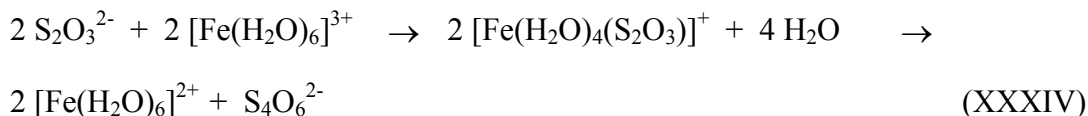


#### 2.4.3.2 Reaktionen mit Metallionen

Neben dem Umstand, dass schwefelhaltige Anionen häufig schwerlösliche Verbindungen mit den verschiedensten Metallionen bilden, reagieren sie auch im Sinne von Redoxsystemen mit einigen Metallionen, Metallen oder Metalloxiden. Sulfite und schweflige Säure sind in der Lage z. B.  $\text{CrO}_4^{2-}$  zu  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  zu  $\text{Fe}^{2+}$  und  $\text{HgCl}_2$  zu  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  zu reduzieren. Sie selbst werden zu Sulfat bzw. Schwefelsäure oxidiert. Die Oxidation von Schwefeldioxid durch Mangandioxid führt zum Dithionat (XXXI), wobei auch ein Teil Sulfat entsteht (XXXII). Mit Eisenoxid bildet sich Eisen(III)-sulfit, das zu Eisen(II)-sulfit und Eisen(II)-dithionat zerfällt (XXXIII). Durch stärkere Reduktionsmittel werden Sulfite in saurer Lösung zu  $\text{H}_2\text{S}$  reduziert. Mit Zinkstaub in wässriger Lösung erfolgt Reduktion zum Dithionit [52, 93].

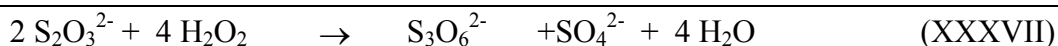
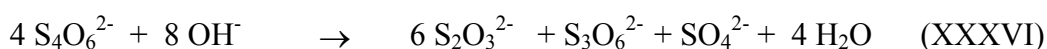
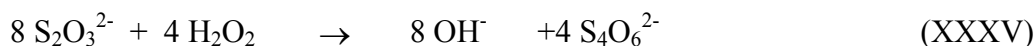


Polythionate werden nur durch starke Oxidationsmittel oder bei Anwesenheit von  $\text{Fe}^{\text{III}}$  zu Sulfat oxidiert [94]. Bei der Umsetzung von Thiosulfat mit Eisen(III)- oder Kupfer(II)-Salzen entsteht Tetrathionat (XXXIV) [14, 44, 58].



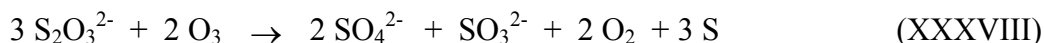
### 2.4.3.3 Reaktionen mit anderen Redoxpartnern

Thiosulfat wird durch starke Oxidationsmittel wie Chlor, Brom, Hypohalogenide, Chromat und Permanganat bis zur Stufe des Sulfats oxidiert. Iod und Wasserstoffperoxid in saurer Lösung führen zu Tetrathionat, unter geeigneten Bedingungen kann mit Wasserstoffperoxid Trithionat erhalten werden [14, 44, 58]. Untersuchungen ergaben, dass Thiosulfat und  $\text{H}_2\text{O}_2$  primär zu Tetrathionat reagieren. Wenn man das entstehende Alkalihydroxid nicht neutralisiert, erfolgt eine Bildung von Trithionat gemäß den Gleichungen (XXXV) bis (XXXVII) [79].



Untersuchungen mit ESR-Spin-Trapping zur Reaktion von Thiosulfat und Wasserstoffperoxid kamen zu dem Ergebnis, dass es sich hierbei um einen radikalischen Mechanismus handelt. Es gelang die Detektion des Thiosulfatradikals  $\text{S}_2\text{O}_3^{\cdot-}$  sowie des Sulfidradikals  $\text{S}^{\cdot-}$ , in früheren Arbeiten wurde bereits die Existenz eines Sulfitradikals  $\text{SO}_3^{\cdot-}$  nachgewiesen [95].

Bei Ozoneinwirkung auf Thiosulfat in neutraler Lösung wird sowohl über die Bildung von Dithionat in einer Nebenreaktion als auch von Sulfat und freier schwefliger Säure berichtet. In diesem Zusammenhang resultiert eine pH-Wert Absenkung der Lösung. Es entsteht weiterhin Polythionat. Bei niedriger Ozonkonzentration wird vorwiegend Sulfat und Schwefeldioxid gebildet, bei hohen Ozonkonzentrationen dominiert Dithionat. Nach anderen Untersuchungen tritt in der Lösung, die neutral bleibt, neben der Bildung von Sulfit und Sulfat Schwefelabscheidung ein (XXXVIII). In alkalischen Lösungen entstehen Sulfit, Sulfat und Polythionat [14, 76].

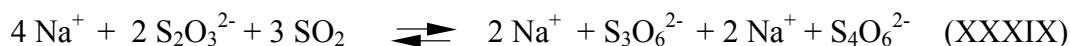


## 2.4.4 Reaktionen schwefelhaltiger Spezies

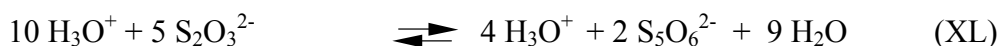
### 2.4.4.1 Reaktionen von schwefliger Säure mit Thiosulfat

Bei der Einwirkung von Schwefeldioxid oder von schwefliger Säure auf Thiosulfat wurde in vielen Untersuchungen über die Bildung von Polythionaten berichtet. Zum Mechanismus und zur Reaktionsbeeinflussung sowie zu den entstehenden Polythionaten existieren abweichende Theorien.

Nach Einleiten von Schwefeldioxid in konzentrierte Thiosulfat-Lösungen bei gewöhnlicher Temperatur wurde das Entstehen von Trithionat und Tetrathionat analog Gleichung (XXXIX) beobachtet [14, 76].



Einige Autoren haben daneben auch Pentathionat gefunden. Hierzu existiert unter anderem die Theorie einer Polymerisation der unter Einwirkung von schwefliger Säure entstandenen Thioschwefelsäure zu Pentathionat gemäß Gleichung (XL) [96]. Es wurde beobachtet, dass sich zuerst Pentathionsäure bildet und nachfolgend Tetrathionsäure und Trithionsäure und dass ein HCl-Zusatz die Polythionatbildung verringert [84]. Frühe Arbeiten berichten von Trithionatbildung und Schwefelabscheidung (XLI) [50].



Im Zusammenhang mit der Polythionatbildung bei der Einwirkung der schwefligen Säure wird auch die primäre Entstehung von Trithionat und Schwefelwasserstoff durch Zersetzung der Thioschwefelsäure angenommen, wie es auch schon bei der Zersetzung durch Mineralsäuren besprochen wurde [Vergleiche Abschnitt 2.4.2.3 Gleichungen (XV) bis (XX)] [54]. Folgereaktionen wie Aufschwefelung, oder bei der Annahme der Entstehung von primär höheren Polythionaten der Sulfitabbau und die Hydrolyse, führen dann zu weiteren Polythionaten [14, 54, 96]. Es wird auch die Möglichkeit diskutiert, dass Thiosulfat in saurer Lösung reagieren könne, als würde es Sulfoxylsäure  $\text{S}(\text{OH})_2$  als Derivat von  $\text{S}^{2+}$  bereitstellen (XLII). Folgereaktionen sollen durch Umsetzung mit schwefliger Säure (XLIII) und Thioschwefelsäure (XLIV) zu Polythionsäuren führen. Durch eigenen Zerfall bedingt entstehen Pentathionsäure, Schwefelsäure, etwas schweflige Säure und wenig Schwefel [14, 85, 97].



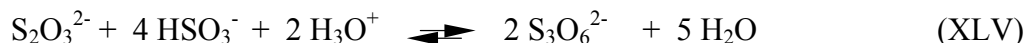
Weitergehende Untersuchungen kamen zu dem Resultat, dass die intensive Gelbfärbung von konzentrierten Thiosulfat-Lösungen in Gegenwart von überschüssigem  $\text{SO}_2$  auf die Bildung einer Art Komplex  $[\text{S}_2\text{O}_3 \cdot \text{SO}_2]^{2-}$  zurückzuführen ist [14, 82, 84, 98, 99], wodurch auch die stabilisierende Wirkung von Sulfite auf Thiosulfat-Lösungen zu erklären ist, wie sie Anwendung bei sauren Fixierbädern in der Fotografie findet. Die entstandene Lösung wandelt sich langsam unter Bildung von Trithionat und Pentathionat um. Tetrathionat wird durch Sulfiteabbau von Pentathionat gebildet. Pentathionat kann in saurer Lösung Schwefel aus Thiosulfat aufnehmen und in Hexathionat übergehen. Je stärker sauer die Lösung, desto langkettiger werden die Polythionate, da verminderter Abbau durch Sulfite erfolgt, bedingt durch das pH-Wert abhängige Gleichgewicht Bisulfite - Schwefeldioxid. Der Zerfall der labilen Verbindung führt auch zur Bildung von Schwefel und Hydrogensulfite.

In verdünnten Lösungen hingegen wird Sulfite angeblich nur träge aufgenommen und die Polythionate zersetzen sich zu Sulfat und Sulfite, so dass durch den Umstand, dass die Polythionatzersetzung mit der Bildung in etwa Schritt halten kann, nur wenig Polythionat gefunden wird [14, 96]. Es wird angegeben, dass nur bei deutlichem Überschuss von Schwefeldioxid viel Polythionat entsteht, bei Einsatz von wässrigen Schwefeldioxid-Lösungen ist hauptsächlich Trithionat und kein Pentathionat zu finden.

Ein saurer pH-Wert ist für die Polythionatbildung förderlich. Ein Schwefeldioxid-Überschuss in alkalischer Lösung führt beobachtungsgemäß nur zum Austausch von Schwefel, eine Polythionatbildung findet nicht statt. Aus Hydrogensulfite-Lösungen und Thiosulfat bilden sich Tetrathionat, Pentathionat und Trithionat angeblich nur bei hoher Hydrogensulfitionen-Konzentration [14].

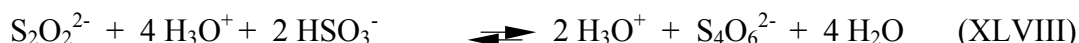
Die Umsetzung von Schwefelhalogeniden der allgemeinen Form  $\text{SX}_2$  oder  $\text{S}_2\text{X}_2$  mit  $\text{SO}_3^{2-}$  oder  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  führt ebenfalls zu Polythionaten, da diese Verbindungen zu  $\text{S(OH)}_2$  bzw. zu  $\text{S}_2(\text{OH})_2$  hydrolysieren und mit Thiosulfat und Schwefeldioxid reagieren [s. auch Gleichungen (XLII) bis (XLIV)]. Dieser Umstand wurde erfolgreich bei der Entwicklung neuer Synthesewege für Pentathionat und Hexathionat (Bildung von Pseudohexathionat wird diskutiert) ausgenutzt. Andere Verfahren arbeiten mittels Katalyse durch Arsenverbindungen [61, 97].

Die gängigsten Theorien zu den Primärreaktionen, die zur Polythionatbildung führen, lassen sich in den summarischen Gleichungen (XLV) und (XLVI) zusammenfassend verdeutlichen [14].



#### 2.4.4.2 Reaktionen von Schwefelwasserstoff mit Schwefeldioxid

Bei der Reaktion von  $\text{H}_2\text{S}$  und  $\text{SO}_2$  in wässriger Lösung erhält man die so genannte Wackenroder'sche Flüssigkeit. Man nimmt heute an, dass Thioschweflige Säure  $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_2$  das primäre Produkt der Reaktion ist (XLVII) (vergleiche auch Hydrolyseprodukt von Verbindungen des Typs  $\text{S}_2\text{X}_2$ ; s. 2.4.4.1). Die Polythionsäuren, die in der Lösung zu finden sind, entstehen durch Folgereaktionen entsprechend den Gleichungen (XLVIII) bis (LII) [14, 52, 82]

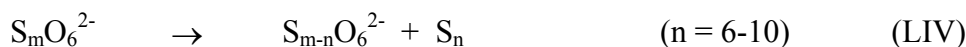


Aus den Gleichungen wird ersichtlich, dass in weiteren Reaktionen Schwefel gebildet wird, der sich auf Grund seiner Reaktivität mit Polythionaten zu Polythionaten höherer Kettenlänge vereinen kann. Es tritt auch Polythionatabbau durch schweflige Säure ein.

Eingehende Untersuchungen zur Zusammensetzung von hydrophilem Schwefelsol (Selmi Sol), das durch Reaktion von Natriumsulfid und Natriumsulfit mit Schwefelsäure in wässriger Lösung nach Janek erhalten wurde, erfolgten unter anderem durch Steudel et al [100]. Der Schwefel des erhaltenen Sols bestand aus einer Mischung von  $\text{S}_8$  mit  $\text{S}_7$ ,  $\text{S}_6$ ,  $\text{S}_9$ ,  $\text{S}_{12}$ ,  $\text{S}_\infty$ .  $\alpha$ - $\text{S}_8$ -Schwefel ist wenig reaktiv und in Wasser bis zu  $5 \mu\text{g/L}$  löslich. Weitere Analysen ergaben in frisch präparierten Selmi Sols höhere Polythionate und nur Spuren von Thiosulfat. Beim Altern nahmen die Konzentrationen von Thiosulfat, Pentathionat und Tetrathionat sowie elementarem Schwefel zu. Die Konzentration der Polythionate mit einer Kettenlänge von mehr als fünf



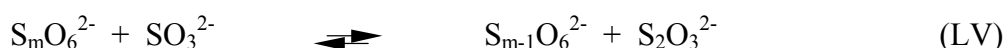
Schwefelatomen nahm während des Alterungsprozesses ab. Die Zersetzung verläuft entsprechend den allgemeinen Gleichungen (LIII) und (LIV).



Im Vergleich hat das Raffo Sol nach Weitz mehr Polythionate höherer Kettenlänge als das Selmi Sol nach Janek. In beiden Fällen bilden sich aus den hydrophilen Polythionaten Mizellen, die in ihrem Kern den Schwefel einschließen. Das Raffo Sol ist thermisch stabiler, der Schwefel fällt langsamer aus. Es sind hier keine Polysulfanoxide vorhanden, diese finden sich nur neben Schwefel und langkettigen Polythionaten, wenn eine Wackenroder'sche Flüssigkeit bei 0 °C aus H<sub>2</sub>S und SO<sub>2</sub> präpariert wird [71, 100].

#### 2.4.4.3 Abbaureaktionen der Polythionate

Der Schwefel in den Polythionaten ist leicht polarisierbar. Eine Polarisation erfolgt durch anionoide Reagenzien [14]. Polythionate haben die Neigung, ihren Schwefel leicht abzugeben [52]. Durch Sulfit erfolgt stufenweise ein Abbau zu niederen Polythionaten und Thiosulfat (LV). In Gegenwart von äquivalenten Mengen Sulfit und Polythionat stellt sich ein Gleichgewicht ein [14, 51]. Wird Sulfit aus dem Gleichgewicht entfernt, z. B. durch Formaldehydzusatz, so ist eine Verschiebung des Gleichgewichtes in die entgegen gesetzte Richtung zu beobachten.



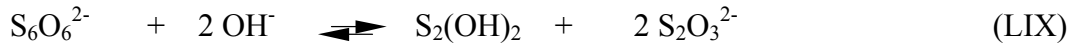
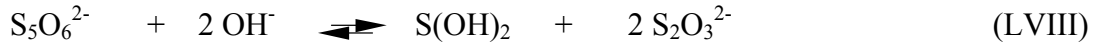
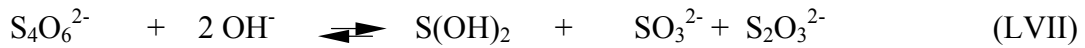
Es sind Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit zu verzeichnen, Pentathionat wird schneller durch Sulfit abgebaut als Tetrathionat. Ein Sulfitüberschuss resultiert in verstärktem Abbau. Bei Einwirken von Bisulfit stellt sich unabhängig von der Menge immer ein Gleichgewicht ein, wobei diese Einstellung sehr langsam erfolgt, so dass Trithionat bereits hydrolysiert. Es wirken im Bisulfit nur die freien Sulfitionen.

Bei der Reaktion von Bisulfit und Tetrathionat wurde ein Abbau zu Pentathionat und Trithionat verzeichnet. Bei Anwesenheit von Thiosulfat wurde eine beschleunigte Gleichgewichtseinstellung registriert. Es wurde festgestellt, dass auch eine Bildung von Trithionat aus Hydrogensulfit und Thiosulfat entsprechend Gleichung erfolgt (LVI).



Für den Zerfall der Polythionate wird postuliert, dass sie pH-Wert abhängige Umkehrreaktionen sowohl ihrer Bildung aus S(OH)<sub>2</sub> als auch aus H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> und H<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

sind [14]. In saurer bis neutraler Lösung führt das zur Bildung von Polythionsäuren, in neutralen bis alkalischen Lösungen erfolgt bevorzugt ein Zerfall von Polythionaten analog den Gleichungen (LVII) bis (LIX).

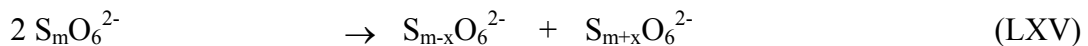
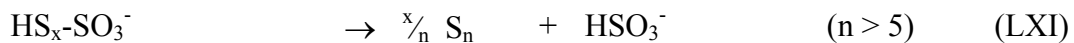
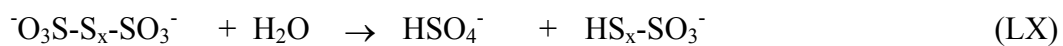


Die Verbindungen  $\text{S(OH)}_2$  und  $\text{S}_2(\text{OH})_2$  zerfallen in teilweise komplizierten Reaktionen weiter zu letztendlich Thiosulfat.

Im pH-Bereich von 8 bis 5 verhält sich die Reihenfolge der Zersetzbarkeit wie folgt: Hexathionat > Pentathionat > Trithionat > Tetrathionat, wobei der Zerfall von Tetrathionat und Pentathionat in diesem Bereich autokatalysiert und die Einordnung unsicher ist, hier entspricht sie einem fortgeschrittenen Stadium.

Im stark alkalischen Milieu ist Trithionat am beständigsten und mit steigendem Schwefelgehalt werden die Polythionate zersetzungsempfindlicher. Im sauren Milieu nimmt die Beständigkeit mit der Kettenlänge zu, ab Octathionat nimmt sie wieder ab [14, 59, 101].

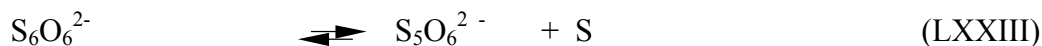
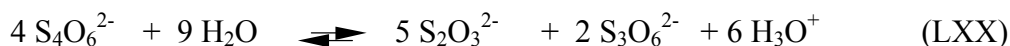
Nach Steudel et al verläuft die Hydrolyse der Polythionate bei 20 °C relativ langsam und nach dem Schema der Gleichungen (LX) bis (LXV) [71]. Da  $\text{S}_n$  mit  $n < 6$  thermodynamisch instabil ist, werden offenbar Spezies mit mehr als 6 Sulfanschweifelatomen gebildet.



In ursprünglich neutraler Lösung zerfällt Trithionat in Thiosulfat und Sulfat, es erfolgt eine pH-Wert Absenkung (LXVI). Durch Folgereaktionen wie Sulfitabbau, Schwefelaufnahme aus Thiosulfat und Zerfall entstandener Thioschwefelsäure können Tetrathionat, Pentathionat, Schwefel und Sulfit entstehen (LXVII) bis (LXIX) [14, 61, 94].

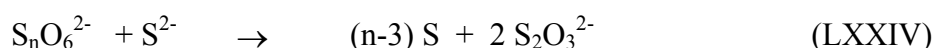


Tetrathionat hydrolysiert in ursprünglich neutraler Lösung zu Thiosulfat und Trithionat unter pH-Wert Absenkung (LXX). Neben den bereits erwähnten Folgereaktionen erfolgt auch Thiosulfatbildung durch entstandenem molekularen Schwefel und Hydrogensulfit und Sulfitabbau höherer Polythionate, z. B. von noch bestehendem Tetrathionat (LXXI) oder Abgabe von Schwefel, z. B. von entstandenem Pentathionat (LXXII). Es kann die Bildung von Pentathionat, Sulfit und Schwefel registriert werden. Bei der Zersetzung von Pentathionat oder Hexathionat in ursprünglich neutraler Lösung entstehen Tetrathionat bzw. Pentathionat und Schwefel (LXXII) und (LXXIII), Folgereaktionen sind analog denen des Tetrathionat- bzw. Pentathionat-Zerfalls.



In saurer Lösung erfolgt ähnliche Zersetzung, Abweichungen gibt es bei stark sauren Lösungen. Trithionat zerfällt primär in Thiosulfat und Sulfat, in Folge entstehen wiederum Tetrathionat, Pentathionat, Sulfit und Schwefel. Tetrathionat zersetzt sich zu Trithionat und Pentathionat, in stark saurer Lösung zu Sulfat, Schwefeldioxid und Schwefel einschließlich Pentathionatbildung. Pentathionat zerfällt in Tetrathionat und Schwefel, in stark saurer Lösung zu Schwefeldioxid und Schwefel, auch hier kann Aufschwefelung zu Hexathionat eintreten. Analog verhält es sich bei Hexathionat.

In alkalischer Lösung zerfällt Trithionat in Thiosulfat und Sulfat, in stark alkalischer Lösung zu Thiosulfat und Sulfit. Tetrathionat zersetzt sich zu Thiosulfat, Trithionat und Pentathionat, aus Folgereaktionen kann Sulfit entstehen. Pentathionat und Hexathionat geben in alkalischer Lösung Schwefel ab und zerfallen somit zum Tetra- bzw. Pentathionat einschließlich der Folgeprodukte. In stärker alkalischen Lösungen entsteht Thiosulfat bzw. Thiosulfat und Schwefel. Auch Sulfid baut Polythionate zu Schwefel und Thiosulfat ab (LXXIV) [14, 85, 101].



#### 2.4.4.4 Reaktionen mit molekularem Schwefel

Die Anlagerung von Schwefel an Polythionate führt zur Bildung höherer Polythionate [s. 2.4.4.2 Gleichung (LII)]. Der Abbau von Schwefel durch Sulfit erfolgt stufenweise über instabile Sulfanmonosulfonsäuren und resultiert letztlich in der Bildung von Thiosulfat [14]. Es wurde beim Einwirken von  $\text{SO}_2$  auf Schwefelblüte neben Thiosulfat auch die Bildung von Polythionaten beobachtet. Schwefel katalysiert den Zerfall von  $\text{SO}_2 / \text{HSO}_3^-$ .

Bei Einwirken von  $\text{KHSO}_3$  auf gefällten Schwefel erfolgt langsame Reaktion zu Thiosulfat und weiter zu Trithionat, das Gleichgewicht liegt ab  $\text{pH} \approx 6$  auf der Seite des Thiosulfats, so dass sich der Schwefel auflöst, bei  $\text{pH} \approx 4,5$  erfolgt Polythionatbildung, vorwiegend Trithionat. Schweflige Säure reagiert mit Schwefelblüte zu Thiosulfat, Trithionat und Tetrathionat entstehen bei höherer Temperatur [102].

#### 2.4.5 Katalytische Beeinflussung von Reaktionen

##### 2.4.5.1 Katalyse der Polythionatbildung

Der Zerfall des Thiosulfats in saurer Lösung, der bevorzugt zu schwefliger Säure und Schwefel und unter gewissen Umständen zu Polythionaten führt, lässt sich durch Spuren von Arsenverbindungen zugunsten der Polythionatbildung lenken, so dass unter geeigneten Bedingungen die gezielte Synthese von Pentathionat durchführbar ist [51, 78, 79, 96].

Auch Antimon-, Molybdat- und Zinnverbindungen besitzen diese, wenn auch hier schwächer ausgeprägte katalytische Wirkung. Offenbar können nur solche Metallsalze den Zerfall in Richtung Polythionatbildung lenken, die in der Lage sind, Thioanionen zu bilden [79, 84]. Zum Mechanismus der Reaktionen gibt es stark abweichende Theorien [14, 54, 85, 98]. In diesem Zusammenhang wurde unter anderem die Bildung eines Radikals  $\text{S}_2\text{O}_3^{\cdot-}$ , wie es auch bei der Oxidation von Thiosulfat mit Wasserstoffperoxid entsteht [95], und dessen Dimerisierung zu  $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$  angenommen.

#### 2.4.5.2 Katalyse des Zerfalls der Polythionate durch Thiosulfat

Thiosulfat katalysiert die Zersetzung von höheren Polythionaten [14]. Nach der Theorie existiert ein Austauschgleichgewicht, in dem keine Schwefelatome, sondern  $\text{S}_2\text{O}_3^-$ - oder  $\text{SO}_3^-$ -Gruppen zwischen Thiosulfat und den Polythionaten ausgetauscht werden. Der Zerfall des Trithionats, bei dem Thiosulfat und durch Folgereaktionen höhere Polythionate entstehen, wird durch Thiosulfat wenig beeinflusst. Thiosulfat katalysiert den Zerfall von Tetrathionat in neutraler Lösung zu Trithionat und Pentathionat, wenig  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  und Schwefel. Auch die Zersetzung von Pentathionat und Hexathionat zu Tetrathionat und Schwefel wird durch Thiosulfat beschleunigt.

#### 2.4.5.3 Photokatalyse und sonstige Faktoren

In der Literatur ist die Zersetzung hydrophiler Schwefelsole durch Licht, charakterisiert durch Schwefelfällung und Bildung kurzkettiger Polythionate, beschrieben [87]. Untersuchungen zur Photostabilität von Polythionaten durch Bestrahlung von Tetrathionat mit Licht der Wellenlängen  $\lambda = 200 - 600 \text{ nm}$  und  $\lambda = 290 - 600 \text{ nm}$  ergab neben der Entwicklung von Schwefelwasserstoff und der Abscheidung von Schwefel eine Zersetzung zu Sulfit, Thiosulfat und Polythionaten mit vier bis zu neun Schwefelatomen [71].

Der gebildete Anteil an Polythionat wurde mit steigender Kettenlänge geringer. Der gebildete Schwefel bestand vorrangig aus  $\text{S}_8$ , in seiner weiteren Zusammensetzung folgten mengenmäßig  $\text{S}_7 > \text{S}_6 > \text{S}_9 \sim \text{S}_{12} > \text{S}_{10}$ . Im Versuch mit  $\lambda = 290 - 600 \text{ nm}$  ging die Zersetzung langsamer von statten, aber mit gleichen Endprodukten. Bei Verlängerung der Dauer der Bestrahlung nahm die Konzentration an allen Polythionaten und auch an Thiosulfat ab. Thiosulfat scheint nur ein Intermediärprodukt zu sein. Es wurde die Bildung von Sulfit, Sulfat und elementarem Schwefel aus der Hydrolyse des Tetrathionats festgestellt. Versuche mit einzelnen Wellenlängen ergaben, dass eine Zersetzung noch stattfindet für  $\lambda = 313 \text{ nm}$ , eine Bestrahlung mit einzelnen Wellenlängen  $\lambda > 350 \text{ nm}$  war uneffektiv. Bei der Photodegradation von Pentathionat ist analog eine Bildung von Thiosulfat, Sulfit,  $\text{S}_n$  (mit  $n$  hauptsächlich 8), Tetrathionat und auch Hexathionat beobachtet worden.

Im Zusammenhang mit der Instabilität von Natriumthiosulfat-Lösungen wurden auch eine durch die Einwirkung von Licht, Staub und  $\text{SiO}_2$  hervorgerufene Spaltung in Sulfit

und Schwefel diskutiert [103], so dass als gängige Schutzmaßnahme für Thiosulfat-Lösungen neben der Alkalisierung und der Reinheit des Ausgangsmaterials ein Schutz vor Sonnenlicht empfohlen wird [76]. Auf den katalysierenden Effekt des Lichtes bezüglich der Autoxidation Schwefeliger Säure wurde bereits im Abschnitt 2.4.3.1 eingegangen und es soll hier nur noch einmal Erwähnung finden [54].

#### **2.4.6 Schlussfolgerungen**

Die vorangestellten Ausführungen geben einen Überblick über die Vielzahl der Möglichkeiten, in welcher Art und Weise und unter welchen Bedingungen sich Natriumthiosulfat zersetzen kann und welche Folgereaktionen eintreten können. Es bleibt einzuschätzen, welche Vorgänge tatsächlich in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen ablaufen.

Von Bedeutung ist in jedem Fall die hydrolytische Zersetzung durch Einwirken von Wasser auf Thiosulfat, da sie offenbar auch ohne katalytisch wirkende Substanzen eintritt. Dadurch resultieren bereits Schwefel, Sulfit, Sulfat, Schwefelwasserstoff und Trithionat als Produkte. Die thermische Beanspruchung der Lösung durch die Sterilisation kann in diesem Zusammenhang als fördernder Faktor angesehen werden.

Eine Zerfallsreaktion, wie sie beim Erhitzen mit hochkonzentrierter NaOH zu beobachten ist, wird für die Zubereitungen ohne Relevanz sein, da selbst bei Einstellung eines alkalischen pH um 8,5 diese extreme Situation nicht erreicht wird. Gleiches gilt für die Zersetzungsreaktionen bei Einwirken von überschüssiger Säure und überschüssigem Schwefeldioxid bzw. Sulfit oder Schwefelwasserstoff. Generell sind jedoch die Vorgänge nach den dort besprochenen Mechanismen einzubeziehen, da es sich meist um Gleichgewichte handelt und sowohl Sulfit / Hydrogensulfit als auch Sulfid durch hydrolytischen Zerfall entstehen und in den Ampullen eine pH-Wert Absenkung durch einige Zerfallsreaktionen als auch durch CO<sub>2</sub> des Flammengases möglich ist. Sulfit oder Bisulfit werden auch als Antioxidans zugesetzt und sind somit unter Umständen von Anfang an als Reaktionspartner vorhanden.

Die Lagerungszeiten der Natriumthiosulfat-Ampullen sind länger, als die, die bei den bisherigen Untersuchungen zur Beobachtung des Zerfalls aufgewendet wurden. Somit ist es denkbar, dass Zerfallsprodukte von Reaktionen, die in neutralen, schwach sauren oder schwach alkalischen Lösungen sehr langsam ablaufen, erst nach genügend langem Zeitraum zu finden sind. Zu diesen Reaktionen zählen die Polythionatbildung und deren

Folgereaktionen mit Sulfit, Sulfid, Schwefel und Thiosulfat sowie ihre Hydrolyse. Der große Überschuss an Thiosulfat ist bei einer Gleichgewichtseinstellung von Bedeutung.

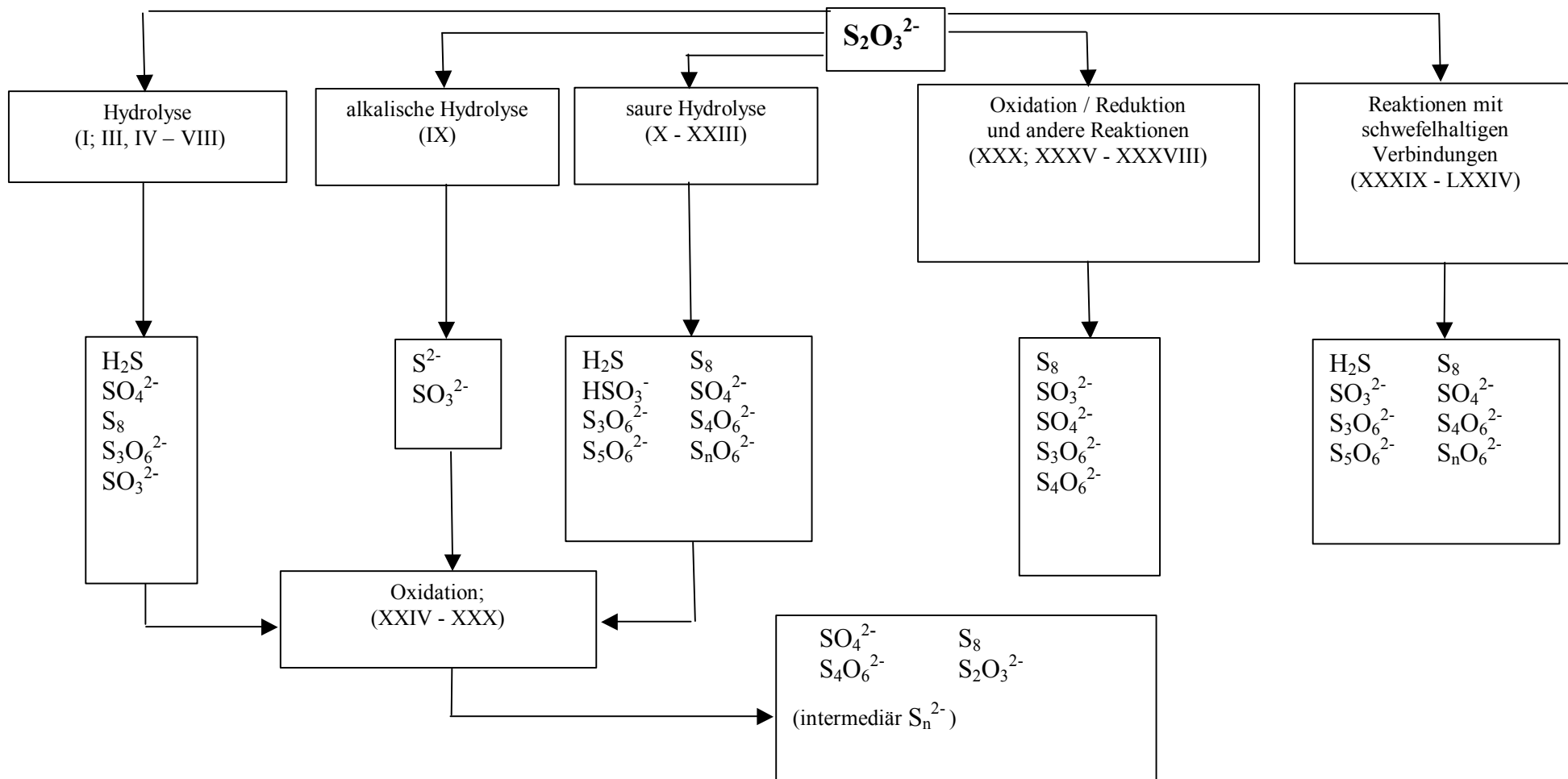
Obwohl eine Beeinflussung des Zerfalls durch radikalische Initialreaktionen, die durch die Energie des Lichtes und bei Anwesenheit von Schwermetallspuren gestartet werden können, in Betracht kommt, dürfte ein photokatalytischer Effekt von untergeordneter Bedeutung sein, da die Injektionslösungen in der Regel nicht langfristig dem Sonnenlicht ausgesetzt werden. Schwermetall- und Erdalkalimetallspuren selbst hingegen lenken auch ohne Strahlungszufuhr den Zerfall von Thiosulfat in Richtung Sulfid- oder Sulfitbildung und zu Reaktionen, die zu Polythionaten führen.

Auch bei Redoxvorgängen haben Schwermetalle katalytischen Einfluss, so dass die hier entstehenden Zerfallsprodukte relevant sind. Es wurde auch gezeigt, dass von den schwefelhaltigen Anionen gebildete Radikale an den Reaktionen beteiligt sind. Die Schwermetallspuren können durch Verunreinigung in die Lösung gelangen. Es ist aber auch eine Reaktion an der Glasoberfläche mit im Glas enthaltenen Zuschlagstoffen in Betracht zu ziehen. Von den Redoxvorgängen werden vorrangig solche mit Beteiligung von Sauerstoff, z. B. Autoxidationsvorgänge, unter Umständen Schwermetall katalysiert, ablaufen. Endprodukte können hier Sulfat, Tetrathionat mit seinen Folgeprodukten, unter Umständen Polysulfide und Schwefel sein. Die speziellen Bedingungen für eine Dithionat- oder Dithionitbildung werden in den Ampullen vermutlich nicht vorliegen.

Besondere Bedeutung im Zerfall kommt den Reaktionen der schwefelhaltigen Spezies untereinander zu. Bereits durch einfache hydrolytische Spaltung von Thiosulfat als auch durch Verunreinigung der Ausgangssubstanzen stehen mehrere Reaktionspartner für weitere Vorgänge zur Verfügung. Auch hier steht die Bildung von Polythionaten und Schwefel sowie Sulfit mit ihren Folgereaktionen im Vordergrund, Sulfanmonosulfonsäuren sind eher unwahrscheinlich.

Die zu großen Mengen und sehr langkettigen Polythionaten führenden Reaktionsbedingungen werden in den Lösungen nicht erreicht, so dass eine Ausbildung von Mizellen mit Schwefeleinschluss nahezu ausgeschlossen ist. Dementsprechend wird der Schwefel in kristalliner  $S_8$  Form und nicht in davon abweichender Kettenlänge vorliegen, wie in hydrophilen Schwefelsols, da er nicht vor dem Angriff des Wassers durch Polythionate geschützt ist und Thiosulfat eine Solbildung stört.

Zusammenfassend ist das Augenmerk der Analytik auf Sulfit, Sulfat, Polythionate, Sulfid und Schwefel, mit geringerer Wahrscheinlichkeit auf Polysulfide zu richten.



Schema der Zersetzungsreaktionen von Thiosulfat und Folgereaktionen - Auswahl



## **2.5 Analytik schwefelhaltiger Anionen**

### **2.5.1 Möglichkeiten, Probleme und Einflussfaktoren in der Analytik**

Für die Bestimmung schwefelhaltiger Anionen wurde eine Vielzahl von analytischen Methoden für Einzelbestimmungen, wie Thiosulfat im Urin und Sulfit in Lebensmitteln [104, 105, 106] als auch für ihre Simultananalyse in verschieden zusammengesetzten Mischungen, wie in Fixierbädern oder Prozesswässern [107, 108, 109] publiziert. Dabei kommen chromatographische, elektrochemische, elektrophoretische und durchflussanalytische Methoden zum Einsatz [110]. Mit der Entwicklung von HPLC und CE wurden existierende Methoden der Dünnschicht- und Papierchromatographie [73, 101] sowie spektralphotometrische und Titrationsverfahren [17] verdrängt.

Bei chromatographischen Verfahren werden unterschiedliches Retentionsverhalten durch differierende Ionisation, Polarisierbarkeit, Löslichkeiten, Ionenpaarbildungs- und Austauschigenschaften der Ionen ausgenutzt. Für die elektrophoretischen Verfahren sind unterschiedliche Migrationsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit von Ladung, Ionenradius und Dissoziation ausschlaggebend. Bei der online-Detektion sind die UV/Vis-Absorption oder die Leitfähigkeit entscheidendes Kriterium, hier wird zum Teil die Derivatisierung zu fluoreszierenden oder stärker absorbierenden Verbindungen eingesetzt. In der Elektrochemie ist das Redoxverhalten der Ionen von Bedeutung.

Limitierende Faktoren bei chromatographischen und elektrophoretischen Verfahren sind das teilweise ähnliche Retentions- bzw. Migrationsverhalten der schwefelhaltigen Ionen, so dass die Auflösung oft sehr gering ist. Bei großem Überschuss eines Ions, hier des Thiosulfats, und einhergehender Massenüberladung verschlechtert sich die Trennung. Die Verwendung eines UV/Vis-Detektors wirft Probleme auf, da die Absorptionskoeffizienten der schwefelhaltigen Anionen sehr klein sind. Dadurch ist die Senkung der Nachweisgrenze eingeschränkt. Bei elektrochemischen Verfahren können Unterschiede im pH-Bereich oder fehlende Umsetzbarkeit Simultananalysen einschränken. Es müssen eine gegenseitige Beeinflussung der Ionen, ihre zum Teil hohe Zersetzungsneigung als auch Querempfindlichkeiten und ein Einfluss sonstiger Bestandteile der Injektionslösungen berücksichtigt werden.

Das erheblichste Problem besteht im Konzentrationsunterschied von Thiosulfat zu seinen Zersetzungsprodukten. Bei publizierten Methoden sind die Konzentrationen der Spezies oft ähnlich und bewegen sich häufig im ppm-Bereich. Der Thiosulfat-Überschuss gegenüber anderen Ionen z. B. bei Fixierbädern ist im Vergleich zu Injektionslösungen deutlich geringer. Natriumthiosulfat wird für ein saures Fixierbad mit Natriumdisulfit im Verhältnis 10:1 gemischt [111].

Eine Betrachtung der analytischen Möglichkeiten und Grenzen ist somit von Bedeutung. Im nachfolgenden Abschnitt werden Methoden und publizierte Applikationen, die für die Thematik von Interesse sind, beurteilt. Damit werden ein Einblick in den Stand der Analytik gegeben und die Grundlagen für die darauf aufbauenden, neu- und weiterentwickelten Methoden dargelegt.

## **2.5.2 Chromatographische Verfahren**

### **2.5.2.1 Ionenaustauschchromatographie**

Die Ionenaustauschchromatographie basiert auf den Wechselwirkungen der Anionen mit den geladenen funktionellen Gruppen der stationären Phase, hier meist quaternäre Ammoniumgruppen, die an Kieselgel, Polymethacrylat oder Poly(styrol-divinylbenzol)-Copolymere, mit oder ohne Latexpartikelschicht, gebunden sind. Man unterscheidet zwischen der Säulentechnik und der Suppressor-Technik. Entsprechend unterscheiden sich die verwendeten Säulen in ihrer Austauschkapazität und die mobilen Phasen in ihrer Elutionsstärke und Grundleitfähigkeit [104].

In der Suppressor-Technik findet am häufigsten ein Hydrogencarbonat / Carbonat-Eluent Anwendung [105, 107, 108, 112, 113], wobei mit einem Stufengradienten zur Trennung von Sulfit, Sulfat und Thiosulfat [112] Sulfit und Sulfat kurz nacheinander noch getrennt eluieren, Thiosulfat eluiert stark tailend. Ein Probenverhältnis von 2:1 im oberen ppm-Bereich verursacht bereits eine breite Peakbasis (z. B. 5 min). Das Tailing konnte durch Boratzusatz nicht eliminiert werden. Es wurde gezeigt, dass bei einer Kalibrierung die Stabilisierung von Sulfit unumgänglich ist, dass auch eine Oxidation in der Apparatur das Ergebnis beeinflussen kann, dass Metallionen den Prozess katalysieren, auch bei stabilisiertem Sulfit, und dass das Oxidationsbedingte Verhältnis von Sulfit zu Sulfat von der Sulfitkonzentration abhängig ist [113].

In einer Methode, die zur Untersuchung fotografischer Fixierbäder entwickelt wurde, konnte gezeigt werden, dass ein hoher Überschuss an Formaldehyd zu einer vollständigen Adduktbildung und Detektion des Addukts führt, während bei geringerer Formaldehydkonzentration das Addukt im Eluenten zerfällt und Sulfit detektiert wird [107]. Thiosulfat und Sulfat beeinflussen die Trennung unter diesen Bedingungen nicht, sie eluieren so spät, dass sie nicht beobachtet werden. Zur Verbesserung der Stabilität wird ein Formaldehydzusatz zum Eluenten empfohlen.

Die Leitfähigkeitsdetektion bei Einsatz der Suppressor-Technik ist für Sulfid ungeeignet, da im Suppressormodul Kationen gegen Protonen ausgetauscht werden, aus Hydrogencarbonat wird dann Kohlensäure mit geringer Grundleitfähigkeit gebildet und aus den Anionen bilden sich die entsprechenden Säuren. Für Sulfid mit einem  $pK_a$  von 6,92 für die erste Protolysestufe bildet sich zum größten Teil Schwefelwasserstoff, der auf Grund seiner geringen Leitfähigkeit nicht detektiert werden kann. Hier wird eine amperometrische oder UV-Detektion erforderlich, bei amperometrischer Detektion liegt die Bestimmungsgrenze bei 30 ng/mL und der lineare Bereich endet bei 1000 ng/mL.

Sulfat und Sulfit konnten z. B. mit einem Borat/Carbonat/Ethylendiamin-Eluenten gleichzeitig bestimmt werden. Die Bestimmungsgrenzen liegen für Direktinjektion im ppb-Bereich, der lineare Bereich der Kalibrierung endet hier bei 50 µg/mL. Die nötige Sulfitstabilisierung durch Formaldehyd führt jedoch zu einer Peakverbreiterung [114]. Für stark polarisierbare Anionen wie Thiosulfat mit hoher Affinität und Überlagerung von Adsorptionsphänomenen müssen Austauschere mit geringerer Hydrophobizität eingesetzt werden. Zum Einfluss einer Überladung des Systems konnten keine Aussagen gefunden werden. Man erhält z. T. stark tailende Peaks. Die Bestimmungsgrenze liegt für die Leitfähigkeitsdetektion im mittleren ppb-Bereich. Für die Bestimmung der Polythionate mit hoher Affinität zur stationären Phase scheint die IPC die Methode der Wahl zu sein [114].

In einer anderen Arbeit wurde eine Trennung von Sulfit, Sulfat und Thiosulfat vorgestellt, bei der Sulfit und Sulfat nicht basisliniengetrennt aufeinander folgen und Thiosulfat deutlich später eluiert wird [115].

Bei der Einsäulentechnik werden Anionenaustauscherharze mit niedriger Kapazität und daraus folgend Eluenten meist organischer Säuren mit geringer Leitfähigkeit in relativ kleinen Konzentrationen eingesetzt [104]. Für die Trennung schwefelhaltiger Anionen wurden Methoden mit verschiedensten Eluenten, Säulenmaterialien und Detektionstechniken entwickelt.

Für die Trennung von Sulfid, Sulfit, Sulfat und Thiosulfat wurde z. B. eine Trennung mit Kaliumhydrogenphthalat-Eluent unter Verwendung der Leitfähigkeits- und der indirekten UV-Detektion bei Konzentrationen zwischen 4 mmol/L und 8 mmol/L KHP bei Vergleich von Säulenmaterial auf Kieselgelbasis und auf Polymerharzbasis und pH-Werten zwischen 4,0 und 5,3 bzw. 6,5 untersucht [116]. Bei Einsatz von Säulen mit derivatisierten Kieselgelpartikeln werden z. B. Sulfat und Sulfit ungetrennt vor Thiosulfat und Sulfid eluiert, bei Einsatz von Säulen mit Polymerharzpartikeln verlassen Sulfit und Sulfat die Säule schlecht getrennt mit sehr geringen Retentionszeitdifferenzen, Sulfid wird zuerst eluiert und Thiosulfat zuletzt. Ähnliche Ergebnisse sind auch in einer Arbeit mit Kombination photometrischer und elektrochemischer Detektion zu finden [109].

In anderen Arbeiten gelang die Trennung von Sulfit, Thiosulfat und Tetrathionat sowohl an Hydroxyethyl-Methacrylat-Austauscher als auch an Poly(styrol-divinylbenzol)-trimethylammonium-Austauscher mit Natriumperchlorat als Eluenten, Gradiententechnik und direkter UV-Detektion [117]. Bei Verwendung der Poly(styrol-divinylbenzol)-basierenden Säule konnte z. B. Sulfit nur in Konzentrationen von 1000 µg/mL und bei hohen Salzkonzentrationen (2 mol/L Natriumperchlorat, 1 mol/L Natriumsulfat) oder 80 % *n*-Propanol-Zusatz detektiert werden.

Untersuchungen zur Trennung verschiedener Anionen ergaben, dass für die Ionen Sulfat und Thiosulfat das relative Verhältnis der Retentionszeiten für verschiedene Kaliumhydrogenphthalat-Konzentrationen nahezu unverändert bleibt und bei steigendem pH-Wert leicht zunimmt [118].

Es wurde eine Methode mit indirekter Detektion bei Verwendung eines Phthalat / Borat-Eluenten von pH 9, die auch zur Trennung von 100 ppm und 10 ppm Sulfat in einer 1 %igen Natriumchloridlösung geeignet ist, entwickelt. Das entspricht einem Verhältnis Chlorid : Sulfat von ca. 1 : 60 bzw. 1 : 600. Der Chlorid-Peak hat hier z. B. eine Basisbreite von etwa 14 min und Sulfat eluiert bei etwa 18 min [119].

Auch Polythionate wurden neben anderen schwefelhaltigen Anionen bestimmt. Es wurden hierbei Methoden mit Citrat als Eluent und einer modifizierten Cer-(IV)-Fluoreszenzdetektion oder Detektion durch DPP nach Sulfitolyse, mit Perchlorat als Eluent und Oxidation der Ionen durch Brom zu Sulfat sowie anschließender Umsetzung mit Fe(III)-perchlorat und photometrischer Detektion entwickelt [120, 121, 122, 123]. Die Peaks sind zum Teil sehr breit und tailend, der Abstand der zeitig eluierenden Ionen ist niedrig, der methodische Aufwand erscheint relativ hoch.

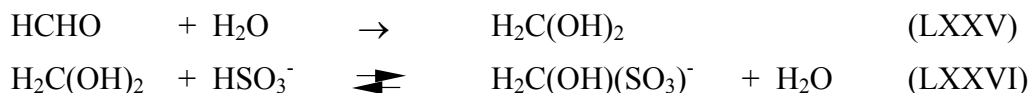
Es existieren eine Reihe von Vorschriften für schwefelhaltige Anionen mit Leitfähigkeitsdetektion, die als Eluenten neben Phthalsäure Lithiumphthalat, Salicylsäure, p-Hydroxybenzoesäure, Natriumoctansulfonat oder Gluconat mit organischen Modifikatoren und zum Teil Antioxidantien verwenden [124, 125, 126, 127, 128, 129, 130]. Die Retentionszeiten von Sulfit und Sulfat liegen immer dicht beieinander, die Auflösung von Sulfat und Thiosulfat ist etwas höher. Eine gleichzeitige Bestimmung von Polythionaten erscheint problematisch, da die Trennung von Trithionat und Thiosulfat meist unzureichend ist und die Bedingungen, die zur Elution höherer Polythionate notwendig sind, die Trennung von Sulfit, Sulfat und Thiosulfat verschlechtern. Es wird auch erkennbar, dass Chlorid, Phosphat und Carbonat, die als Bestandteile der Injektionslösungen vorhanden sein können, besonders mit Sulfit oder Sulfat interferieren und mit annähernd gleichen Retentionszeiten eluiert werden.

Untersuchungen an Thiosulfat-Injektionslösungen führten zu dem Resultat, dass bei Einsatz von p-Hydroxybenzoesäure der Systempeak zwischen Sulfat und Thiosulfat einen Doppelpeak bei Thiosulfat verursacht [13]. Daraufhin wurde ein (vermutlich alkalischer) Benzoat-Eluent verwendet. Hier werden Sulfit und Sulfat ungetrennt vor Thiosulfat eluiert. Tetrathionat konnte hier nicht bestimmt werden, da es die Säule nicht verlässt. Bei weiteren Versuchen wurde die Pufferkonzentration bei längerer Trennsäule verdoppelt, so dass sich die Retentionszeit von Thiosulfat auf 20 min erhöhte. Sulfit und Sulfat blieben auch hier ungetrennt. Für die Bestimmungen von Sulfat neben Thiosulfat wurde daraufhin auf die kürzere Säule zurückgegriffen, wobei Sulfat (mit Sulfit eluierend) und Thiosulfat durch Leitfähigkeitsmessung detektiert wurden. Für Sulfat wurde eine Nachweisgrenze von etwa 0,2 ppm und ein linearer Bereich der Kalibrierung von 0,8 ppm bis 6 ppm gefunden.

Problematisch erscheint hier, dass eine Verfälschung der Ergebnisse durch die gemeinsame Elution von Sulfit und Sulfat erfolgen kann, da Sulfit unstabilisiert sehr schnell zu Sulfat oxidiert wird. Auf Grund der niedrigen Nachweisgrenze und der hohen Empfindlichkeit für Sulfat in der Ionenchromatographie können Konzentrationen des aus Sulfit gebildeten Sulfats die Bestimmung verfälschen. Die Bestimmung von Sulfit, (angegebene Nachweisgrenze 6 ppm) kann somit ebenfalls auf Grund der fehlenden Selektivität der eingesetzten Methode durch eine Oxidation des Sulfits zu Sulfat beeinflusst worden sein.

Für Thiosulfat wurde ein linearer Kalibrierbereich zwischen 150 ppm und 350 ppm angegeben.

Bei der Stabilisierung von Sulfit wird Hydroxymethansulfonat gebildet (LXXV) und (LXXVI) [110]. Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Zusätze wie Formaldehyd, Aceton, Alkohole, Glycerol und Saccharide ergaben, dass Formaldehyd im Molverhältnis 1:1 am effektivsten eine Oxidation für mindestens 72 h verhindert [131]. Weiterführende Untersuchungen ergaben bei 5 %igem Formaldehydzusatz nach 14 d eine Oxidation zu Sulfat < 0,1 %, auch eine Katalyse durch Fremdionen konnte unterbunden werden [132].



### 2.5.2.2 Ionenpaarchromatographie

Durch Zusatz von quaternären Alkylaminverbindungen zur mobilen Phase können Anionen an einer chemisch gebundenen Umkehrphase getrennt werden. Die Grundlagen des Retentionsmechanismus sind nach wie vor nicht vollständig geklärt. Sowohl die Theorie der Bildung neutraler Ionenpaare, die von der unpolaren stationären Phase retardiert werden, als auch die Beschreibung mit dem Modell des dynamischen Ionenaustauschers, bei dem die stationäre Phase durch das zugesetzte Reagenz belegt wird, charakterisieren nur Grenzfälle. Durch Einsatz organischer sowie anorganischer Modifikatoren wie Methanol, Propanol, Acetonitril oder Natriumcarbonat können Retentionszeiten verkürzt und die Peakform verbessert werden [114, 133, 134].

Untersuchungen zur Eignung von Ionenpaarbildnern für schwefelhaltige Ionen kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Rabin und Stanbury favorisierten Tetrapropylammoniumbromid für die Trennung, Tetraethylammoniumsalze wurden wegen zu niedriger und Tetrabutylammoniumsalze wegen zu hoher Kapazitätsfaktoren als ungeeignet bezeichnet [135]. Weidenauer et al fanden dass Sulfit, Sulfat und Thiosulfat nicht aufgelöst werden, wenn Tetrathionat eluiert werden soll [115]. Bei Verwendung von Tetrabutylammoniumhydroxid müssen Analysenzeiten von 40 Minuten akzeptiert werden, Sulfit, Sulfat und Thiosulfat werden getrennt, die Auflösung entspricht bei Konzentrationen von je 2 ppm jedoch keiner Basislinientrennung.

Auch die Trennungen der Polythionate in den umfangreichen Untersuchungen von Steudel et al basieren auf Eluenten mit Tetrabutylammoniumhydrogenphosphat und vorwiegend Acetonitril [71, 100, 136, 137]. Die Acetonitril-Konzentrationen wurden je nach Trennproblem in Abhängigkeit von der Kettenlänge der Polythionate variiert, z. T.

wurde Methanol, in anderen Methoden Natriumcarbonat zugesetzt. Für höhere Polythionate scheint die Anwendung eines linearen Konzentrationsgradienten mit Reduktion des Ionenpaarbildners geeignet. Für noch höhere Polythionate wurde die Acetonitril-Konzentration erhöht. Thiosulfat wird gefolgt von Tetrathionat, die Auflösung von Tetrathionat und Pentathionat ist teilweise gering, Sulfit und Sulfat wurden nicht bestimmt. Unter veränderten Bedingungen kann auch Trithionat von Thiosulfat getrennt werden. Es wurde bei diesen Untersuchungen das Phänomen der Bildung von Nachbarpeaks bei den Polythionaten auf Grund von Säulenüberladung beobachtet. Ein bedeutender Überschuss eines Anions lag nicht vor.

Ein Versuch, unterschiedliche Polysulfide zu trennen, scheiterte an den bestehenden Gleichgewichten der Polysulfide verschiedener Kettenlänge, sich ineinander umzuwandeln [138]. Die Polysulfide konnten jedoch als ein Peak von  $\text{HS}^-$  und  $\text{SO}_3^{2-}$  mit ähnlichem Eluenten wie für die Polythionatbestimmung getrennt werden, lediglich der Acetonitril-Anteil wurde reduziert und der pH-Wert erhöht.

Bei Untersuchungen von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen wurde die Trennung an einer RP-18-Phase mit direkter UV-Detektion angewendet [12]. Das Fließmittel setzte sich aus Methanol und einer wässrigen Tetrabutylammoniumhydrogensulfat-Lösung zusammen. Es wird zuerst Sulfit und anschließend Thiosulfat eluiert. Die Begründung, dass Sulfat nicht detektiert werden konnte, da es von der hohen Sulfatkonzentration des Ionenpaarbildners maskiert wird, muss abgelehnt werden, da Sulfat bei  $\lambda = 254 \text{ nm}$  keine UV-Absorption aufweist und eine Detektion dadurch ausgeschlossen ist. Eine Bestimmung von Sulfit neben Thiosulfat in den Injektionslösungen erfolgte nicht, so dass zum Einfluss des Thiosulfat-Überschusses keine Aussagen gemacht werden können. Für Thiosulfat wurde hier ein Bereich von 100 bis 800 ppm kalibriert.

Auf Grund von Extraktionsversuchen wurde in einer Arbeit Hexamethoniumchlorid als geeigneter Ionenpaarbildner gefunden und untersucht [13]. Sulfit und Thiosulfat wurden unter diesen Bedingungen nicht retardiert. Sulfat konnte auf Grund der fehlenden UV-Absorption nicht bestimmt werden. Tetrathionat wurde früh eluiert. Die Kalibrierung wurde von  $1,5 \mu\text{g/mL}$  bis  $6,0 \mu\text{g/mL}$  durchgeführt. Die dokumentierte Peakhöhe betrug bei der Injektion von  $1,5 \mu\text{g/mL}$  Tetrathionat  $0,7 \text{ mm}$ . Diese Signalgröße dürfte dem kritischen Messwert entsprechen und stellt in der Konzentrationsdomäne somit die Nachweisgrenze dar. In Injektionslösungen konnten kein Polythionate nachgewiesen werden.

### 2.5.2.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Methoden zur Trennung von Schwefelhomocyclen aus hydrophilen Schwefelsols an RP-18-Phasen mit UV-Detektion wurden durch Steudel et al entwickelt [71, 100, 139, 140]. Der Schwefel wurde durch Kohlenstoffdisulfid oder Cyclohexan extrahiert oder direkt als Sol injiziert. Als Eluent wurden Methanol / Cyclohexan oder reines Methanol eingesetzt, so dass Basislinientrennung der einzelnen Homocyclen erreicht wurde. Hierbei konnte der Alterungsprozess der Solen mit der einhergehenden Änderung der Zusammensetzung untersucht werden, wobei erwartungsgemäß der Anteil der stabilen Schwefelhomocyclen, vorrangig S<sub>8</sub>, aber auch S<sub>7</sub> und S<sub>12</sub>, zunahm.

## 2.5.3 Elektrophoretische Verfahren

### 2.5.3.1 Kapillarzonenoelektrophorese

Mit der Einführung der Kapillarzonenoelektrophorese als kommerzielle Analysenmethode werden zunehmend Applikationen für anorganische Anionen entwickelt, die sinnvolle Ergänzungen oder Ersatz der Ionenchromatographie und anderer Analysenverfahren darstellen. Bei der Auswahl des Trennsystems muss der hohen Mobilität, dem elektroosmotischen Fluss und der geringen UV/Vis-Absorption anorganischer Anionen Rechnung getragen werden. Grundprinzip der Trennung sind die unterschiedliche elektrophoretischen Mobilitäten und somit Migrationsgeschwindigkeiten der Ionen im elektrischen Feld entsprechend folgender Zusammenhänge [15]:

$$u = \mu \cdot E$$

$$u = \frac{z \cdot F \cdot E}{6 \cdot r \cdot \pi \cdot \eta \cdot N_A}$$

Die Trennung erfolgt in meist unbeschichteten Quarzkapillaren, wodurch es auf Grund der pH-Wert abhängigen Deprotonierung der Silanolgruppen zum Phänomen des elektroosmotischen Flusses (EOF) kommt. Die gesamte Flüssigkeitssäule wandert bei Anlegen der Spannung, die für gewöhnlich zwischen 5 und 30 kV liegt, in Richtung Kathode und die Gesamtgeschwindigkeit entspricht der Addition der vektoriellen



Geschwindigkeit des Ions und des EOFs. Damit wird deutlich, dass bei einer Trennung von Anionen der EOF der eigentlichen Wanderung der Ionen zur Anode entgegengerichtet ist. Dies führt zu sehr langen Migrationszeiten mit Peakverbreiterung, sehr schnelle Ionen erreichen je nach Stärke des EOFs und Polung den Detektor gar nicht. Aus diesem Grund hat sich der Einsatz von so genannten EOF-Modifikatoren zur Abschwächung oder Umkehr des EOF und die „umgepolte“ Arbeitsweise mit anodischem Kapillarauslass etabliert. Zur Beeinflussung des EOFs eignen sich Pufferadditive wie quaternäre Aminverbindungen mit Tensideigenschaften, die die Kapillaroberfläche beschichten, zum Teil sogar soweit positivieren, dass der EOF anodisch gerichtet ist.

Bei der Wahl des Hintergrundelektrolyten (HGE) müssen verschiedene Kompromisse eingegangen werden. Die Eigenabsorption anorganischer Anionen ist zum Teil sehr gering wie z. B. im Falle des Sulfats, Phosphats und Chlorids. Andere Ionen wie z. B. Nitrat, Nitrit, Bromid, Iodid und Thiosulfat weisen eine gewisse Absorption im unteren UV-Bereich auf. Für Ionen mit geringer Eigenabsorption kommt bei Verwendung eines UV/Vis-Detektors, wie er in den kommerziell erhältlichen Geräten vorhanden ist, nur eine indirekte Detektion in Frage. Hier verdrängen die Probeionen auf Grund der Elektroneutralität in der Kapillare die absorbierenden Hintergrundelektrolyt-Ionen gleicher Ladungsart und erzeugen somit ein eigentlich negatives Detektorsignal. Die Detektion wird problematisch, wenn in der Probe gleichzeitig Ionen mit einem Absorptionskoeffizienten ähnlich dem eingesetzten Hintergrundelektrolyten auftreten. Sie erzeugen dann einen positiven oder negativen Peak mit nur geringer Signalintensität. Die Signalthöhe ist abhängig vom Unterschied der Absorptionskoeffizienten und der Anzahl der durch die Probeionen verdrängten Elektrolytmoleküle.

In der Kapillarzonenoelektrophorese ist die Peakform durch Mobilitätsunterschiede zwischen Hintergrundelektrolyt und Probeion beeinflusst. Die Trenneffizienz ist von der Ionenstärke des Puffers abhängig. Es sollte ein Elektrolyt mit möglichst ähnlicher Mobilität wie die zu trennenden Ionen gewählt werden, um symmetrische Peaks zu erhalten. Bei komplexen Trennproblemen lässt sich das nur bedingt realisieren. Die Erhöhung der Konzentration und somit der Ionenstärke des Puffers ist durch die Entwicklung Joulescher Wärme in der Kapillare bei resultierenden höheren Strömen und einhergehender Peakverbreiterung durch Konvektion eingeschränkt.

Eine beschriebene Anwendung der Kapillarelektrophorese, bei der verschiedene schwefelhaltige neben weiteren Anionen bestimmt werden, ist die Untersuchung von Prozesswässern, die in der Zellstoffindustrie anfallen [141]. Auch bei der Analyse von Kühlschmierstoffen werden neben anderen Ionen Thiosulfat und Sulfat als Probenbestandteile gefunden [142]. Bei anderen Applikationen, wie in der Wasseranalytik oder in der Grundlagenforschung der Methodenentwicklung, werden als schwefelhaltige Spezies meist nur Sulfat oder Sulfat und Thiosulfat, vereinzelt auch Dithionat neben anderen Ionen berücksichtigt [143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159]. Die hohe Leistungsfähigkeit der Methode wurde mit der Trennung von 36 Anionen innerhalb von 3 Minuten demonstriert, wobei hier alle Konzentrationen zwischen 0,3 und 3,3 ppm lagen [160].

Für die kapillarelektrophoretische Trennung von Anionen mit indirekter UV/Vis-Detektion wurden verschiedene Hintergrundelektrolyten und EOF-Modifikatoren mit unterschiedlichem Erfolg erprobt. In vielen Arbeiten wurde Chromat als HGE eingesetzt, was erstmalig von Jones und Jandik beschrieben wurde. Dabei wurde das Trennsystem durch unterschiedliche Konzentrationen, EOF-Modifikatoren und pH-Werte der jeweiligen Aufgabenstellung angepasst [141, 143, 149, 152, 155, 157, 160]. Bei den Methoden, die mit Cetyltrimethylammoniumsalzen, z. B. Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) arbeiten, werden generell sehr kurze Migrationszeiten mit dichter Peakfolge erreicht. Die hier getrennten Proben enthielten meist Anionen mit annähernd gleichen Konzentrationen im unteren ppm-Bereich.

Für die Analyse schwefelhaltiger Anionen in Industrieprozesswasser der Zellstoffindustrie wurde z. B. ein üblicher Puffer mit 5 mM Chromat, 0,5 mM CTAB und einem sehr alkalischen pH-Wert von 10,6 eingesetzt. Die Detektion erfolgte bei zwei Wellenlängen, da Hydrogensulfid bei einem Absorptionsmaximum des Chromats bei 254 nm eine ähnliche Absorption aufweist. Bei  $\lambda = 214$  nm wurde Hydrogensulfid als positiver Peak bei etwa 3,3 Minuten bestimmt, auch Thiosulfat gibt hier einen positiven Peak. Bei  $\lambda = 254$  nm wurden Thiosulfat, Sulfat und Sulfit detektiert [141]. Für die Trink- und Brauchwasseranalytik wurde ein analoges Chromatpuffersystem mit pH 8,1 entwickelt und für Ionen im Bereich von 1 bis 4 ppm getestet [143].

Neben CTAB wurden auch Tetradecyltrimethylammoniumbromid TTAB zur Umkehrung des EOFs benutzt. Bei Pufferung des Systems mit Borsäure wurden unter anderem Thiosulfat dicht gefolgt von Sulfat getrennt [147]. Es wurden weitere Tenside, ionische und nichtionische Polymere und Makrocyclen auf ihren Einfluss hinsichtlich

EOF und Selektivität untersucht [152, 154, 161]. Ein Versuch mit kathodischem EOF ohne Coating der Kapillare ergab für Sulfat tailende Peaks mit einer Migrationszeit von etwa 28 min bei -35 kV. Als Detektionslimits werden Werte im mittleren bis oberen ppb-Bereich angegeben.

Auf Grund eines Absorptionskoeffizienten von  $7,8 \cdot 10^{-3} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  ( $\lambda = 250 \text{ nm}$ ) und der hohen elektrophoretischen Mobilität bei voller Ionisation ( $\text{pK}_a$  der letzten Protolysestufe  $\approx 5,6$ ) kommt auch häufig 1,2,4,5-Benzentetracarbonsäure (Pyromellitsäure, PMA) als HGE zum Einsatz. Unter Verwendung eines PMA-Puffer mit Decamethoniumhydroxid (DMOH) als EOF-Modifikator sowie mit Triethanolamin (TEA) und NaOH wurden unter anderem Thiosulfat und Sulfat innerhalb 3 Minuten getrennt [142]. Ähnliche Ergebnisse wurden mit PMA, Hexamethoniumhydroxid (HMOH) und TEA sowie mit PMA und Diethylentriamin (DETA) oder PMA und dem weniger flüchtigen Tetramethylethylendiamin (TEMED) zur Unterdrückung des EOFs im ppm-Bereich erzielt [147, 155, 158, 162].

Neben unterschiedlich modifizierten PMA- und Chromatsystemen findet man in der Literatur Applikationen mit Molybdat, Iodid, Ferrocyanide, Dichromat, Phthalat, Salicylat, p-Aminobenzoat, p-Hydroxybenzoat, Sorbat, 2-Sulfobenzylsäure, Benzoessäure, o-Benzylbenzoessäure und Naphthalensulfonsäuren als absorbierenden Hintergrundelektrolyten [146, 149, 150, 151, 163, 164]. HGE mit geringer Mobilität eignen sich für organische Säureanionen, weniger für anorganische Anionen mit hoher Beweglichkeit. p-Hydroxybenzoat und Sorbat sind für die Trennung von Thiosulfat und Sulfat ungeeignet, Salicylat weist im Bereich von Sulfat einen störenden Basisliniensprung auf, alle anderen Trennsysteme zeichnen sich durch dichte Peakfolge aus. Bei den Hintergrundelektrolyten ist zu beobachten, dass bei steigender Carbonsäuregruppenzahl mit steigender Ionisation und Ladung die Migrationszeiten länger werden.

Viele Untersuchungen beschäftigen sich mit dem Einfluss verschiedener Parameter auf die Trennung [155]. Mit einer zu niedrigen Konzentration des HGE verschlechtert sich bei indirekter photometrischer Detektion das Signal-Rausch-Verhältnis, die Belastbarkeit des Systems und auch die Trenneffizienz, da sich die Peakbreite proportional zum Konzentrationsverhältnis Probeion zu Carrierion verhält. Bei zu hoher Konzentration resultieren durch höheren Strom eine Verstärkung der Konvektion und somit Peakverbreiterung sowie Viskositätsänderungen mit verschlechterter Reproduzierbarkeit auf Grund verstärkter Erwärmung. Es muss demzufolge ein

Kompromiss gefunden werden. Es wurden Konzentrationen von 5-15 mM als optimaler Bereich des HGE für die kapillarelektrophoretische Trennung gefunden [150, 155]. Es sollte nur ein Carrierion im HGE vorhanden sein, da weitere chromophore und nichtchromophore Ionen, z. B. vom EOF-Modifikator, zu Basisliniensprüngen und Sensitivitätsverlust führen. Andererseits führt eine Pufferung des HGE zu besserer Reproduzierbarkeit [155, 105].

Auch hinsichtlich der Wahl des EOF-Modifikators ist zu beachten, dass z. B. quaternäre Ammoniumverbindungen wie CTAB z. T. unlösliche Ionenpaare bilden und selbst eine geringe Löslichkeit aufweisen. Bei Hexamethoniumsalzen erfolgt keine Interaktionen in diesem Sinne und eine pH-Wert unabhängige EOF-Modifikation ist möglich [155]. Die gängigen Substanzen unterscheiden sich auch hinsichtlich ihrer Fähigkeit, eine Umkehr des EOF zur anodischen Richtung oder nur eine Abschwächung des kathodischen EOFs zu bewirken [15].

Bei Überschreitung der Kritischen Mizellbildungskonzentration von Tensiden überlagert sich die Methode mit Effekten der Mizellaren Elektrokinetischen Chromatographie. Für Cetyltrimethylammoniumchlorid (CTAC) / Phosphatpuffer und direkter Detektion wurden mit höherer CTAC-Konzentration eine verbesserte Auflösung gefunden [166]. Mit CTAB in Chromatelektrolyt wird dann z. B. Sulfat von Chlorid, welches ähnlich wie Thiosulfat migriert, getrennt [153]. Auch hier sind die Analysenzeiten sehr kurz und die Abstände der Peaks gering. Von der Firma SUPELCO wurden hydrophob und amidmodifizierte Kapillaren entwickelt und getestet, deren EOF abgeschwächt bzw. durch positive Ladung der Oberfläche anodisch gerichtet ist [167, 168, 169]. Hier kann der Zusatz eines EOF-Modifikators entfallen.

Viele anorganische Anionen sind in ihrer Ionisation im pH-Bereich von 3 bis 9 unbeeinflusst, dass trifft jedoch nicht für z. B.  $\text{HS}^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  und  $\text{HPO}_4^{2-}$  zu. Hier ist über die Wahl des pH-Wertes eine Beeinflussung der Migrationsgeschwindigkeit möglich. Auch die Stärke des EOFs und die Ionisation des HGE hängen u. a. vom pH-Wert ab, so dass hier Änderungen der Analysenzeiten resultieren. Der EOF führt durch den Flüssigkeitstransport zu einem hydrodynamischen Druck, wodurch ein Hagen-Poiseuille'sches Strömungsprofil den eigentlichen Fluss überlagert und die Effizienz vermindert [170].

Für den Zusatz von organischen Lösungsmitteln wurden unterschiedliche Effekte auf den EOF gefunden. Methanol führt bis zu einem Anteil von 10 % zu einer Steigerung, danach zu einer Verminderung des EOFs, Acetonitril erhöht bei einer Konzentration

von 20 % den EOF, Isopropanol vermindert den EOF drastisch, für Tetrahydrofuran wurde kein Effekt gefunden [15, 155]. Neben der Beeinflussung des EOFs sind auch Selektivitätsänderungen beobachtet worden. Ein Zusatz Methanol verändert die Migrationsreihenfolge von z. B. Sulfat und Nitrat, von Iodid und Chlorid sowie von Perchlorat und Azid, ein THF-Zusatz ändert die Migrationsreihenfolge von Thiosulfat, Bromid und Chlorid [145, 155]. Eine Erklärung bietet sich mit den verschiedenen Hydratationsenthalpien der Ionen und der Änderung der  $pK_a$ -Werte in Lösungsmittel-Wasser-Gemischen gegenüber reinem Wasser an.

Für eine gute Reproduzierbarkeit ist eine Temperaturkontrolle unerlässlich, es wurden auch Arbeiten mit Einsatz eines Temperaturgradienten durchgeführt. Für Sulfat konnte bei Temperaturerhöhung eine Änderung des Selektivitätsfaktors festgestellt werden, da sich die Wanderungsgeschwindigkeit im Vergleich zu anderen Ionen stärker erhöhte [156, 162].

Zu große Probevolumina oder Probenkonzentrationen führen zu Peakverzerrung und Auflösungsverlust durch Überladungseffekte (Volumen- und Masseüberladung) [170]. Für eine Erhöhung der Probenkonzentration um den Faktor 10 wurde eine Zunahme der Trennstufenhöhe um fast das 100fache registriert [15]. Mit beginnender Überladung bei einem untersuchten Chromatsystem wurde eine Überlappung der Peaks und somit Effizienzverlust festgestellt [148]. Auch eine Abhängigkeit der Wiederfindung von der Verdünnung wurde beobachtet, nur bei genügend großen Verdünnungen war eine Wiederfindung um 100 % gegeben [142].

Untersuchungen zum Einfluss einer Überschuskomponente ergaben eine Migrationszeitverschiebung bei Erhöhung der Konzentration einer Probenkomponente, da somit die Ionenstärke der Probenmatrix verändert wird [158]. Bei einer Spannungsrampe von 9 Sekunden wird dieser Effekt vermindert, die Verschlechterung der Peakform von solchen Ionen mit geringerer Konzentrationen bei Überschuss eines anderen Ions (z. B. je 4 ppm  $SO_4^{2-}$  und  $Cl^-$  neben 200 ppm  $NO_3^-$ ) blieb jedoch unverändert. Neben abgeflachten, unsymmetrischen Peaks sind auch unreproduzierbare Basisliniensprünge zu beobachten. Die Migrationszeit der Überschuskomponente ist ebenfalls nicht reproduzierbar, da durch Elektrodipersion ein mit der Konzentration zunehmendes Fronting beobachtet wird (z. B. bei  $c > 250$  ppm weist  $NO_3^-$  eine höhere Leitfähigkeit als der  $3 \cdot 10^{-3}$  mol/L PMA-HGE auf). Es resultiert eine Peakverbreiterung und eine geringere Effizienz. Wird hier die PMA-Konzentration erhöht, verbessert sich die Peakeffizienz.

Beachtet werden muss die Elektrolyse des Puffers im Gefäß bei angelegter Hochspannung. Auf Kathodenseite erfolgt ein pH-Wert Anstieg, auf Anodenseite ein pH-Wert Abfall [158, 170]. Dadurch ist eine Migrationszeitdrift zu beobachten. Bei der Kalibrierung ist zu beachten, dass bei verschobenen Migrationszeiten mit zunehmenden Migrationszeiten größere Peakflächen resultieren und dass eine elektrokinetische Injektion eine Diskriminierung weniger mobiler Probenbestandteile mit sich bringt [15]. Bei Untersuchungen wurde festgestellt, dass bei höheren Konzentrationen ein anderer linearer Zusammenhang gilt und unter Umständen getrennte Kalibrierungen für zwei Bereiche vorzunehmen sind [147].

Die Bestimmungen bei Überschuss einer Komponente sind selten beschrieben, besonders bei Applikationen mit Beteiligung schwefelhaltiger Anionen. Eine Methode, die auch die Bestimmung von Chlorid neben einem etwa 30fachen Überschuss von Sulfat gestattet, wurde entwickelt [143]. Ist die Möglichkeit der direkten Detektion gegeben, z. B. bei Vorhandensein aromatischer Systeme im Analyten, so herrschen bessere Voraussetzungen für die Wahl des Trennsystems, das Signal-Rausch-Verhältnis und die Nachweisgrenze (NWG). So konnte z. B. mit einem kontrollierten Peakfronting in 5000 ppm Terephthalat bei  $\lambda = 185$  nm eine Verunreinigung von 0,56 ppm p-Toluol bestimmt werden. Das entspricht einem Verhältnis von etwa 1 : 8900 [171]. Untersuchungen zum Überschuss von Chlorid in Analysenproben ergaben, dass es eine kritische Konzentration von etwa 100 ppm gibt, oberhalb der Chlorid wie ein Leitelektrolyt bei der Isotachophorese fungiert, was zu Migrationszeit-Verschiebungen führt [172].

Das Phänomen der Wandadsorption, welches bisher vorrangig aus der Proteintrennung bekannt ist, wurde auch für Phosphat beschrieben [173]. Nur eine aufwendige Kapillarkonditionierung brachte akzeptable Ergebnisse.

Eine Arbeit mit direktem Vergleich von Ionenaustauschchromatographie (IC) mit Leitfähigkeitsdetektion und Kapillarzonenoelektrophorese (CZE) mit indirekter Detektion für die Trennung anorganischer Anionen im ppm-Bereich erbrachte für die CZE kürzere Analysenzeiten mit zum Teil besserer Auflösungen und höherer Präzision [157]. Bei der CZE resultieren aber höhere Nachweisgrenzen im unteren ppm-Bereich, während die IC Bestimmungen im oberen ppb-Bereich erlaubt.

Die Leitfähigkeitsdetektion (LFD) hat bei der CZE noch keine große Verbreitung gefunden, durch die Hochspannung kann ein verstärktes Rauschen auftreten [174]. Bei Untersuchungen mit LFD lag aber z. B. die NWG für  $\text{SO}_4^{2-}$  im ppb-Bereich [159].

### 2.5.3.2 Isotachophorese

Bei der Isotachophorese (ITP) findet kein kontinuierliches Puffersystem Anwendung, sondern die Probe wird zwischen einen Elektrolyten höherer Mobilität als die Probeionen (Leitelektrolyt) und einen Elektrolyten mit geringerer Mobilität (Folgeelektrolyt) injiziert. Die Probeionen werden nach steigender Mobilität getrennt [15, 175] und die Zonen wandern nach Erreichen eines stationären Zustands mit gleicher Geschwindigkeit. In jeder Probenzone herrscht eine unterschiedlich hohe Feldstärke und die Zonenlänge ergibt sich aus der Konzentration des Ions in der Probe, die sich einstellende Konzentration der Probenzonen hängt von der Konzentration des Leitelektrolyten gemäß der Regulierungsfunktion nach Kohlrausch ab [176]. Die Kapillaren haben für gewöhnlich einen größeren Innendurchmesser als in der CZE. Es werden keine Peaks sondern Stufen detektiert, die durch mathematische Umwandlung eine Darstellung als Peak gestatten. Herkömmlich erfolgt bei der ITP Leitfähigkeitsdetektion, für eine UV/Vis-Detektion sind genügend hohe und unterschiedliche Absorptionskoeffizienten unabdingbare Voraussetzung.

Eine Arbeit auf diesem Gebiet beschäftigt sich mit der Bestimmung von Thiosulfat, Sulfat und Sulfit in Natriumsulfid. Es wurde ein zusammengesetztes Kapillarsystem von 1 mm Durchmesser und 50 cm Länge aus Polytetrafluoräthylen (PTFE) sowie 0,5 mm Durchmesser und 150 mm Länge aus fluoriniertem Ethylenpropylen mit Leitfähigkeitsdetektion verwendet. Als Leitelektrolyt diente Salzsäure / Aceton / L-Histidin, als Folgeelektrolyt wurde Natriumacetat eingesetzt. Der Strom wurde im Sinne eines Stufengradienten während des Laufs verändert. Es konnten z. B. 1200 ppm Thiosulfat, 810 ppm Sulfat und 1490 ppm Sulfit in Natriumsulfid bestimmt werden, Sulfid selbst wandert hinter dem Folgeelektrolyten und stört somit die Bestimmung nicht [177].

Eine besondere Methode der Isotachophorese, bei der eine hinter dem Leitelektrolyten migrierende Überschuskomponente durch Kapillarkopplung, Vortrennung und „Heartcutting“ über separate Gegenelektroden auszuschleusen ist, erlaubt die Bestimmung bei extremen Konzentrationsverhältnissen [176, 178]. Eine Leitfähigkeitsdetektion bei der Untersuchung anorganischer Ionen ist hier für akzeptable Nachweis- und Bestimmungsgrenzen unabdingbar.

### 2.5.4 Polarographie

Das Grundprinzip der Polarographie, die als Spezialfall der Voltammetrie zu verstehen ist, besteht in der Messung des elektrischen Stromes, der in einer Messzelle mit Quecksilbertropfelektrode fließt, wobei eine zeitlich veränderliche Spannung angelegt wird [179]. Bei der Arbeitselektrode, der Quecksilbertropfelektrode, wird in diesem Fall die Elektrodenoberfläche ständig reproduzierbar erneuert. Als Referenzelektrode dient eine nichtpolarisierbare Ag/AgCl- oder Kalomelelektrode. Werden an der Grenzfläche zwischen Elektrode und Lösung auf Grund von Reduktions- oder Oxydationsvorgängen bei geeignetem Potential Elektronen übertragen, kommt es zum Stromfluss und man erhält eine polarographische Stufe. Das Halbstufenpotential  $E_{1/2}$  ist das Kriterium, das zur qualitativen Analyse einer Substanz herangezogen wird. Der Diffusionsgrenzstrom ist der Konzentration der zu bestimmenden Spezies proportional. Für den gemittelten Diffusionsgrenzstrom während eines Tropfenlebens gilt:

$$I_d = 0,607 \cdot n \cdot F \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6} \cdot c$$

Da im Laufe eines Tropfenlebens zunächst ein abfallender kapazitiver Strom den ansteigenden Faraday-Strom überlagert, was zur Verzerrung der Basislinie und zur Begrenzung der Empfindlichkeit führt, wurden verschiedene Methoden entwickelt, um nach Möglichkeit nur den Faraday-Strom zu erfassen.

Bei der differentiellen Pulspolarographie (DPP) wird ein Spannungspuls konstanter Größe auf die tropfensynchron treppenförmig ansteigende Spannung aufgesetzt. In zwei Intervallen kurz vor dem Setzen und kurz vor dem Absetzen des Pulses wird der Strom gemessen. Man bildet die Differenz und erhält ein peakförmiges Signal. Durch Wahl der Messpunkte gegen Ende des Tropfenlebens werden nur kleine kapazitive Ströme mit erfasst, der Anteil ist durch die Differenzbildung vernachlässigbar geworden.

Das Potential am Maximum entspricht nicht genau dem Halbstufenpotential, der lineare Zusammenhang zwischen Peakstrom und Konzentration ist jedoch gegeben. Die direkte Bestimmung von Thiosulfat, Sulfit und Sulfid und die indirekte Bestimmung von Sulfat mittels polarographischer Analyse sind unter verschiedenen Bedingungen möglich. Es wurden einige Applikationen zu diesem Thema erarbeitet.

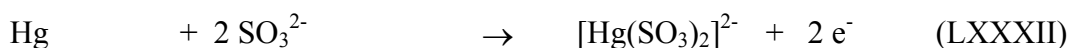
Bei Anwesenheit von Sulfid ergibt sich in schwach alkalischer Lösung eine anodische Stufe, wobei Quecksilber oxidiert wird und eine schwerlösliche Verbindung resultiert [180, 181]. Diese Stufe entspricht der Oxidation des Quecksilbers zu Quecksilbersulfid gemäß der Gleichung (LXXVII). Das Halbstufenpotential bei pH 10 bis 12 und



Verwendung einer gesättigten Kalomelelektrode (GKE) wird mit -0,68 V angegeben. Auch Polysulfide werden bei diesem Potential umgesetzt, es entsteht neben dem erwähnten Quecksilbersulfid auch Schwefel [181].



Sulfit ist an der Quecksilbertropfelektrode in alkalischer und neutraler Lösung nicht reduzierbar, in saurer Lösung bilden sich Hydrogensulfit und Schwefeldioxid. In Abhängigkeit vom pH-Wert erhält man eine Stufe durch Reduktion zu Sulfoxylsäure (LXXVIII) oder in schwächer saurem Medium ab pH 6 zwei Stufen, die der Reduktion des Hydrogensulfits mit nachfolgender Bildung von Dithionit und einer anschließenden Reduktion zu Thiosulfat entsprechen sollen (LXXIX) bis (LXXXI) [180, 182]. Die beobachteten Potentiale sind pH-Wert abhängig. Andere Autoren nehmen eine Komplexanionbildung analog zu Thiosulfat an (LXXXII) [181]. Das Halbstufenpotential beträgt -0,6 V (GKE, pH 5).



Thiosulfat bildet bei der polarographischen Bestimmung eine gut ausgebildete Stufe bei  $E_{1/2} = -0,15 \text{ V}$ , die durch die Bildung des Komplexanions  $[\text{Hg}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{2-}$  verursacht wird (LXXXIII) [182]. Andere Autoren sprechen von -0,12 V (GKE, pH 5) [181].



Eine schlecht ausgebildete Stufe erscheint bei  $E_{1/2} = +0,15 \text{ V}$ , von der angenommen wird, dass sie der Oxidation des Thiosulfats zu Sulfit entspricht [180]. In der Literatur findet man Gleichungen für die Reduktion von Thiosulfat zu Schwefel, Sulfid und Polysulfid. Es wurde beobachtet, dass große Mengen Chlorid die Bestimmung stören.

Für Thiosulfat wurden auch Methoden unter Anwendung der „cathodic stripping voltammetrie“ (CSV) beschrieben. Die Bestimmung basiert auf einer Reduktion bei einem Potential von -0,2 V und ist nicht adsorptiver Natur. Des Weiteren ist eine Bestimmung unter Ausnutzung der Elektrosorption mit anschließender CSV möglich, wobei ein Signal bei -0,38 V erhalten wird.

Studien ergaben, dass Thiosulfat eine starke Elektrosorption bei positiverem Potential als -0,4 V in Acetatpuffer bei pH 4,4 gegen eine gesättigte Kalomelelektrode aufweist [183].

Eine Applikation zur Bestimmung von Sulfid, Sulfit und Thiosulfat nebeneinander oder Sulfid und Sulfit in einer Probe mit DPP lässt zuerst in NaOH Sulfid mit einem Reduktionspeak bei ca. -0,72 V bis -0,75 V polarographieren, da die Sulfidbestimmung im Sauren auf Grund der Flüchtigkeit von  $\text{H}_2\text{S}$  nicht durchführbar ist [184, 185]. Anschließend wird Essigsäure zugegeben und Thiosulfat und Sulfit können mit Peakpotentialen von -0,14 bis -0,18 V für  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  und zwischen -0,58 V und -0,61 V für  $\text{SO}_3^{2-}$  bestimmt werden. Reste von Sulfid verursachen einen Peak bei -0,49 V.

Sulfat kann nur über die Verkleinerung der Stufen von Bleiionen oder Bariumionen indirekt bestimmt werden [180, 186].

Liegen in der Untersuchungslösung nur Sulfit und / oder Thiosulfat vor, wird sofort in Acetatpuffer gearbeitet. Entsprechend der Herstellungsvorschrift resultiert eine Elektrolyt mit  $\text{pH} = \text{pKs}$  und somit mit einem pH-Wert von etwa 4,7. Für Thiosulfat wird mit steigender Konzentration ein Auswandern des Peaks zu negativerem Potential beobachtet. Für Thiosulfat wurde auch das Überlappen von zwei Peaks bei Potentialen zwischen -0,14 V und -0,28 V dokumentiert, wobei bei niedrigen Konzentrationen nur ein Peak bei -0,28 V auftreten soll [185]. Untersuchungen zu verschiedenen Mischungsverhältnissen ergaben, dass eine Sulfitbestimmung bei 100fachem Thiosulfat-Überschuss möglich ist [184].

Untersuchungen an Natriumthiosulfat-Injektionslösungen wurden mit Citrat- und Acetatpuffer mit einem pH-Wert von 5 gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode durchgeführt [13]. Sulfit wurde bei einem Peakpotential von -0,60 V bestimmt. Citratpuffer wurde als ungeeignet gefunden, da sich Thiosulfat im Leitelektrolyten zersetzt. Es wird die Bildung einer sulfidähnlichen Substanz mit einem Peakpotential von -0,36 V angenommen. Für Sulfid wird ein Peakpotential von -0,38 V (im sauren Grundelektrolyten) gefunden. Ein unbekanntes Intermediärprodukt mit einem Peakpotential von -0,90 V wurde in diesem Zusammenhang ebenfalls beschrieben. Sulfit konnte im ppb-Bereich bestimmt werden, wobei die Kalibrierung extern mit Sulfit durchgeführt wurde. Sulfid konnte nicht bestimmt werden.

### 2.5.5 Sonstige Verfahren

Neben den in den vorangegangenen Abschnitten beschriebenen analytischen Verfahren sind in der Literatur noch eine Reihe weiterer Methoden zur Bestimmung schwefelhaltiger Anionen zu finden. Eine Zusammenfassung findet sich bei Szekeres [17].

Für die Bestimmung von Sulfit wurde ein elektrochemischer Sulfit-Sensor auf der Basis einer amperometrischen Sauerstoffelektrode entwickelt. Die Sulfitoxidase ist hierbei physikalisch in einer Polymermatrix immobilisiert auf der Sauerstoffelektrode fixiert. Eine Bestimmung im unteren ppm-Bereich ist hierbei möglich [187]. Auch für Sulfid wurde ein amperometrischer Mikrosensor vorgestellt.  $\text{H}_2\text{S}$  gelangt durch eine Permeationsmembran in das Sensorinnere und stört hier ein Ionenverhältnis gelöster Redoxmediatoren. Durch das Bestreben der Wiederherstellung des Ausgangszustandes wird durch elektrochemische Reaktion ein  $\text{H}_2\text{S}$ -konzentrationsabhängiger Stromfluss registriert. Die Nachweisgrenze liegt bei 1-2 ppm mit einem VK von 5-15% [188].

Bei den Titrationsverfahren finden unter anderem Redox- und Fällungstitrationen mit visueller, amperometrischer, potentiometrischer oder photometrischer Endpunktsbestimmung Anwendung, auch unter Einsatz ionensensitiver Elektroden. Thiosulfat lässt sich z. B. mit Iod oder mit Bromsuccinimid titrieren, Sulfit ist ebenfalls iodometrisch bestimmbar [17, 58, 93, 189]. Sulfat kann mit Bariumsulfat gefällt werden, der Überschuss wird mit EGTA zurück titriert, eine Fällung mit Blei- oder Bariumperchlorat und Thorin als Indikator mit photometrischer Indikation oder bei Verwendung von Bleiperchlorat mit einer bleisensitiven Elektrode ist ebenfalls möglich [190].

Bei Sulfit und Thiosulfat in Mischungen ist bei Formaldehydzusatz zuerst Thiosulfat titrierbar und Sulfit aus der Differenz einer zweiten Titration ohne  $\text{HCHO}$ -Zusatz zu berechnen [189, 191]. Sind Sulfid und Thiosulfat nebeneinander zu bestimmen, wird ähnlich verfahren,  $\text{H}_2\text{S}$  wird hier mit Stickstoff aus einer Probe verdrängt [191]. Auch eine Fällung von Sulfid als Zink- oder Cadmiumsalz in einem aliquoten Teil der Probe ist möglich.

Für die Bestimmung von Polythionaten wurden titrimetrische Verfahren entwickelt, bei denen aliquote Teile der Probe mit Sulfit, Cyanid, Sulfid und Alkali behandelt werden und das entstandene Thiosulfat iodometrisch bestimmt werden kann [191].

Die Bestimmung kann spektralfotometrisch erfolgen, in dem der Überschuss an Triodid  $I_3^-$  nach Umsetzung mit Sulfit, Sulfid oder Thiosulfat erfasst wird [191, 192]. Bei der Sulfitolyse oder Sulfidolyse von Polythionaten wird ebenfalls im Anschluss überschüssiges  $I_3^-$  zur Quantifizierung herangezogen. Thiosulfat und Polythionate bilden mit Cyanid Thiocyanat, welches mit Eisen(III)-salzen umgesetzt und bestimmt werden kann. Diese und andere Untersuchungen finden Anwendung in der Fließinjektionsanalyse (FIA). Es ist z. B. eine Methode zur Sulfitbestimmung beschrieben, mit der durch Entfärbung von p-Rosanilin Sulfit neben 200fachem Thiosulfat-Überschuss bestimmt werden kann [193].

Auf dem Gebiet der Infrarotspektroskopie wurde eine Methode mit Einsatz der abgeschwächten Totalreflexion (ATR) vorgestellt, die eine Analyse von wässrigen Multikomponentenlösungen schwefelhaltiger Anionen im Bereich von 0,0005 mol/L bis 0,0323 mol/L erlaubt [194].

### **2.5.6 Schlussfolgerungen**

Von den Methoden der Ionenaustauschchromatographie scheint die Einsäulentechnik bessere Voraussetzungen hinsichtlich der Variation von Trennparametern zu bieten, die unter Umständen eine genügend hohe Auflösung der einzelnen Ionen ermöglicht. Unabhängig von Einsäulen- oder Suppressor-Technik bleibt die Trennung von Sulfit und Sulfat problematisch, teilweise auch die Auflösung von Thiosulfat und Sulfat. Die gleichzeitige Bestimmung von Polythionaten scheint nur unter Auflösungsverlust zeitig eluierender Ionen möglich mit einhergehendem Tailing der spät eluierenden Ionen. Da keine Methode eine mit Sicherheit befriedigende Trennung liefert, müssen hier Voruntersuchungen zur Wahl des Eluenten, der Säule und des pH-Wertes durchgeführt werden, bei denen außer auf hohe Auflösung auf die Lage von Systempeaks und die Stabilität der Ionen geachtet werden muss. Für Sulfit sollte eine Stabilisierung vorgenommen werden.

Bei der Ionenpaarchromatographie erscheint der Einsatz von Tetrabutylammoniumsalzen als lipophiles Reagenz und von Acetonitril als organischer Modifikator eine geeignete Basis für die Erstellung einer Trennmethode zu sein, da hiermit eine relativ gute Auflösung der Polythionate im ppm-Bereich erreicht wurde. Da die Retentionszeitdifferenzen von Thiosulfat zu nachfolgenden Spezies sehr gering sind, wird auch hier eine Verbesserung der Auflösung notwendig sein.

Bei der kapillarelektrophoretischen Trennung ist bei annähernd gleicher Konzentration der Analyten im oberen ppb- bis ppm-Bereich eine hohe Trenneffizienz mit geringen Analysenzeiten charakteristisch. Für eine Bestimmung im Spurenbereich in den Injektionslösungen, z. B. von Sulfat neben Thiosulfat müssen jedoch höhere Auflösungen erreicht werden, da auch für die CZE Verschlechterungen der Trennungen durch Massen- und Volumenüberladung dokumentiert sind. Es müssen die vorhandenen Unterschiede in den Absorptionskoeffizienten und -maxima schwefelhaltiger Anionen beachtet werden, da bei indirekter Detektion bei einer für ein Ion geeigneten Wellenlänge andere Ionen auf Grund geringerer Absorptionsdifferenz im Vergleich zum Carrierion einen Verlust hinsichtlich der Nachweisgrenze erfahren. Ein Verzicht auf eine EOF-Modifikation zugunsten der Auflösung erscheint nicht sinnvoll, da die Migrationszeiten so groß werden, dass flache, stark tailende Peaks entstehen, die eine Bestimmung im Spurenbereich verhindern. Möglichkeiten der Optimierung sind neben der Wahl des HGE und des EOF-Modifikators in einem Zusatz von organischen Lösungsmitteln und Variation von Temperatur und pH-Wert gegeben. Eine ITP wäre eine Alternative zur CZE, sie steht jedoch nicht zur Verfügung.

Für Einzelinjektion oder bei annähernd gleichen Konzentrationen liegen die Nachweisgrenzen sowohl für chromatographische als auch elektrophoretische Verfahren im ppm- bis ppb-Bereich. Es muss geprüft werden, ob hier eine Verschlechterung bei Effizienzverlust durch Überschuss hervorgerufen wird.

Bei der polarographischen Bestimmung von Thiosulfat erschwert ein Auswandern des Peaks mit steigender Konzentration die Quantifizierung. Für Sulfid muss beachtet werden, dass die Bestimmung bei alkalischem pH-Wert vorgenommen wird. Im Fall der Injektionslösungen ist in Betracht zu ziehen, dass unterschiedliche pH-Werte in den Ampullen zu unterschiedlichen Verhältnissen an  $\text{HS}^-$  und gasförmigem  $\text{H}_2\text{S}$  führen und nur der gelöste Anteil erfasst wird. Da Sulfit im sauren Milieu polarographiert werden muss, ist bei großem Thiosulfat-Überschuss eine Zunahme des Sulfits durch saure Zersetzung von Thiosulfat nicht auszuschließen.

Titrimetrische, spektralphotometrische und auch durchflussanalytische Methoden sind relativ aufwendig, da für Gemische Mehrfachbestimmungen aliquoter Probenanteile notwendig sind. Für eine hinreichend sichere Bestimmung von Spuren an Sulfit, Sulfid und Polythionaten sind diese Verfahren neben einem störenden Überschuss an Thiosulfat wenig geeignet.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Allgemeine Vorbetrachtungen der Untersuchungen

##### 3.1.1 Kriterien bei der Auswahl von Methoden

Die Vielzahl von Methoden der instrumentellen Analytik unterscheidet sich hinsichtlich ihrer Handhabung, Robustheit, Präzision und ihres Arbeitsbereiches (Gehaltsbestimmung, Spurenanalytik). In den vorangegangenen Abschnitten wurden bereits Art und Herkunft möglicher Zersetzungsprodukte und die gängigen Methoden, die bei der Untersuchung schwefelhaltiger Anionen in Frage kommen, betrachtet.

Für die Bearbeitung des Themas wurden verschiedene Methoden eingesetzt und der speziellen Problemstellung angepasst. Die Möglichkeiten und Grenzen einzelner Methoden können empirisch bereits abgeschätzt werden:

Tab. 2: Einschätzung der Eignung der Methoden für analytische Problemstellungen.

Methode	Aufwand	Robustheit	Präzision	qualitative Analytik	quantitative Analytik	
					Gehaltsbestimmung oberhalb des ppm-Bereichs	Spurenanalytik
IPC (UVD)	++	++	++	+++	+++	++
IC (LFD)	++	++	++	+++	+++	++
HPLC (UVD)	++	+++	+++	+++	+++	++
DPP	++	++	+++	++	+++	+++
CZE (direkte Detektion)	++	++	++	+++	+++	++
CZE (indirekte Detektion)	++	+	++	+++	+++	++
Biamperom. Titration	+	+++	+++	-	+++	-
Potentiom. Titration	+	+++	+++	-	+++	-

Legende: +      niedrig      /      mit Einschränkungen geeignet  
 ++      mittel      /      geeignet  
 +++      hoch      /      sehr geeignet  
 -      ungeeignet

Für die Charakterisierung der Natriumthiosulfat-Injektionslösungen sollen unter Einsatz der instrumentellen Analytik folgende Untersuchungen durchgeführt werden:

- ⇒ quantitative Analytik des Natriumthiosulfat - Gehaltsbestimmung
- ⇒ qualitative Analytik der Zersetzungsprodukte - Spurenanalytik
- ⇒ quantitative Analytik der Zersetzungsprodukte - Spurenanalytik
- ⇒ Bestimmung der Pufferkapazität
- ⇒ Bestimmung des pH-Wertes.

Der Gehalt von Natriumthiosulfat-Pentahydrat soll mit Hilfe der

- ⇒ Biamperometrischen Titration
- ⇒ Differentiellen Pulspolarographie
- ⇒ Ionenchromatographie oder Ionenpaarchromatographie
- ⇒ Kapillarelektrophorese bestimmt werden.

Für die qualitative und quantitative Analytik der anionischen Zersetzungsprodukte sollen

- ⇒ Ionenpaarchromatographie
- ⇒ Ionenchromatographie
- ⇒ Differentiellen Pulspolarographie
- ⇒ Kapillarelektrophorese auf ihre Eignung untersucht werden.

Die Bestimmung des molekularen Schwefels soll mit Hilfe der

- ⇒ RP-HPLC versucht werden.

Der pH-Wert und die Pufferkapazität der Lösungen werden unter Einsatz

- ⇒ Potentiometrischer Titration bestimmt.

Eine Prüfung auf Sterilität erfolgt in Anlehnung an die Vorschriften des Europäischen Arzneibuchs.

Vorraussetzung für eine direkte UV/Vis photometrische Detektion ist eine genügend hohe Absorption des Ions im entsprechenden Wellenlängenbereich, die sich von der Absorption des verwendeten Fließmittels unterscheiden soll. Bei der indirekten Detektion ist eine im Vergleich zur hohen Absorption des Hintergrunds niedrige Absorption der zu detektierenden Spezies notwendig. Zur Festlegung geeigneter Wellenlängen wurden vorab UV-Spektren aufgenommen.

Tab. 3: Absorptionsmaxima und spezifische Absorption schwefelhaltiger Anionen\*).

Spezies	$\lambda_{\max}$ in nm	$A^{1\%}_{1\text{cm}}$
Sulfit	210,5	34,7
Sulfat	keine Absorption > 200 nm	-
Thiosulfat	214,0	364
Sulfid	229,5	1808
Polysulfid	224,5	n.b.
Trithionat	$\approx 211$ (DAD)	n.b.
Tetrathionat	215,5	490
Pentathionat	210,5	475
Hexathionat	216,5	437

\*) Mittelwerte ( $n \geq 3$ ), durch UV-photometrische Messung ermittelt

Als Lösungsmittel wie z. B. Methanol, Acetonitril, Wasser usw. wurden nur Lösungsmittel mit UV- bzw. HPLC-Güte und entsprechend hoher Transmission verwendet. Die Absorptionsdaten der Lösungsmittel sind hinreichend bekannt und tabelliert. Als anorganisches Gegenion wurde vorwiegend Phosphat ausgewählt.

Die Absorptionsmaxima der Pyromellitsäure liegen bei rund 214 nm, 254 nm und 295 nm. Die Absorptionsmaxima des Chromats liegen bei rund 359 nm und 272 nm.

### 3.1.2 Kriterien bei der Herstellung von Realproben

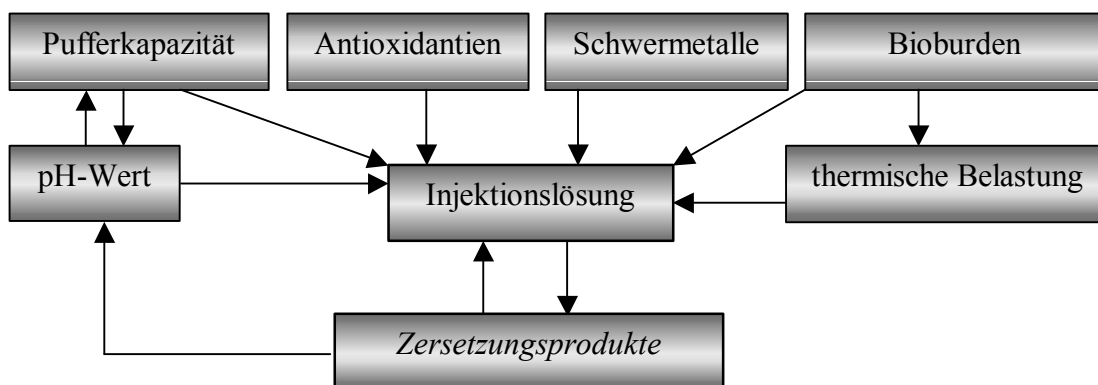
Eine Entwicklung der analytischen Methoden erfolgte vorrangig unter Verwendung von Standardlösungen einzelner Spezies sowie deren Mischungen. Es wurden dotierte Proben vermessen, die in ihrer Zusammensetzung so hergestellt wurden, dass sie der vorliegenden Matrix nahe kommen. Zur Beurteilung der Methoden im Hinblick auf Robustheit und Selektivität wurden Messungen von realen Proben hinzugezogen. Dazu wurden sowohl Handelspräparate untersucht als auch Injektionslösungen mit erwartungsgemäß unterschiedlichen Verunreinigungsprofilen hergestellt und vermessen.



Die Erstellung der Vorschriften für die Ampullenherstellung erfolgte unter Berücksichtigung gängiger Prinzipien der pharmazeutischen Technologie bezüglich Stabilisierung, Haltbarkeit und Keimreduktion. Im Gegensatz zu technologisch orientierten Arbeiten hatten hier die Variationen der Galenik nicht unmittelbar die Entwicklung einer möglichst langzeitstabilen Zubereitung zum Ziel.

Ziel der Herstellung war es, Lösungen mit unterschiedlichen Spektren an Zersetzungsprodukten zur Verfügung zu haben, um die analytischen Methoden auf ihre Einsatzbreite prüfen zu können. Aus diesem Grund wurden bewusst Bedingungen gewählt, bei denen eine Zersetzung zu erwarten war.

Variiert wurden die Art der pH-Einstellung, die Pufferkapazität, der antioxidative Schutz, die Schwermetallkomplexierung, die Art der Reduktion der Keimbelastung und die thermische Belastung der Lösungen. Eine Beurteilung der Maßnahmen hinsichtlich ihrer Eignung zur Verbesserung der Stabilität von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen sollte an Hand der gewonnenen analytischen Daten dennoch möglich sein.



Zur *Variation*<sup>2</sup> des *pH-Wertes* und der *Pufferkapazität* wurden:

- kein Zusatz zur pH-Wert Einstellung zugegeben (I)
- die Einstellung auf einen alkalischen pH-Wert mit NaOH vorgenommen (III)
- eine Einstellung des pH-Wertes durch geringen Zusatz eines puffernden Salzgemisches vorgenommen (II)
- eine Einstellung des pH-Wertes durch moderaten Zusatz eines puffernden Phosphatsalzgemisches mit zusätzlichem Natronlaugezusatz vorgenommen (IV)

<sup>2</sup> Angabe in Klammer bezieht sich auf die Rezeptur bei Lösungen eigener Herstellung

- eine Einstellung des pH-Wertes durch hohen Zusatz eines puffernden Phosphatsalzgemisches und Natronlaugezusatz vorgenommen (IX, V)

Als *Variation* des *antioxidativen Schutzes* wurden:

- kein Antioxidans zugegeben (I)
- Natriumdisulfit zugegeben in Kombination mit geringem Phosphatzusatz und EDTA (II)
- Natriumdisulfit zugegeben in Kombination mit Natronlaugezusatz (III)

Zur *Variation* der *Schwermetallkomplexierung/-abscheidung* wurden:

- kein Zusatz zur Komplexierung zugegeben (I),
- EDTA-Zusatz in Kombination mit Disulfit und geringem Phosphatzusatz (II)
- EDTA zugesetzt in Kombination mit Phosphat (Bundeswehr)
- der Ansatz vor Abfüllung komplett 15 min autoklaviert und filtriert, um eine Gleichgewichtseinstellung und die Abscheidung von Schwefel und Schwermetallsulfiden zu beschleunigen (V, IX)

Zur *Variation* des Einflusses der *thermischen Belastung* bei der Autoklavierung wurden einige Ansätze geteilt. Eine Hälfte wurde sterilfiltriert und eine Hälfte dampfsterilisiert. Chargen mit Ansatzautoklavierung und Schluss-Sterilisation haben somit unter Umständen eine zweifache thermische Belastung erfahren, während ein anderer Teil der Chargen völlig ohne Autoklavierung in die Ampullen gefüllt wurde.

Bei Ampullen mit dem Chargenzusatz A wurde als Maßnahme zur Keimverminderung nur Sterilfiltration durchgeführt. Der Zusatz B weist auf eine Dampfsterilisation hin. Bei einzelnen Rezepturen (V, IX) wurde der gesamte Ansatz 15 min autoklaviert und filtriert und anschließend weiterverarbeitet, um eine Gleichgewichtseinstellung und die Abscheidung von Schwefel und Schwermetallsulfiden zu beschleunigen. Der Ansatz wurde dann analog weiterverarbeitet.

Die Chargenzusätze 1, 2 und 3 beziehen sich auf das *Jahr der Herstellung*:

1 ..... 1996;    2 ..... 1997;    3 ..... 1998.

Somit kann z. B. der Chargenbezeichnung IV-B-2 entnommen werden, dass die betreffende Natriumthiosulfat-Injektionslösung 1997 gemäß galenischer Vorschrift IV hergestellt und einer Dampfsterilisation unterzogen worden ist.

Tab. 4: Zusammensetzung der untersuchten Natriumthiosulfat-Injektionslösungen – eigene Herstellung und Handelspräparate.

Charge oder Handelspräparat	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (deklar. Inhalt) / g	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ / g	EDTA / g	NaOH / g	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ / g	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ / g	WFI / mL	Konzentration / %	pH Einstellung (MW)	pH nach Sterilisation (MW)
<b>I</b>	100,0	-	-	-	-	-	ad 1000	10	- (gemess. $\approx 8$ )	6,0
<b>II</b>	100,0	0,100	1,000	-	0,050	1,120	ad 1000	10	- (gemess. $\approx 7,5$ )	6,4
<b>III</b>	100,0	0,100	-	q.s.	-	-	ad 1000	10	eingest. 8,5	7,1
<b>IV</b>	100,0	-	-	0,014	-	4,130	ad 1000,0	10	eingest. 9,0	8,2
<b>V</b>	250,0	-	-	0,034	-	10,010	ad 1000	25	eingest. 9,4	8,9
<b>IX</b>	100,0	-	-	0,034	-	10,010	ad 1000	10	eingest. 9,5	9,0
<b>Köhler Ch. 950811, 961911 973431</b>	100,0	0,100	+ *)	+ *)	-	+ *)	ad 1000 **)	10	nicht bekannt	nicht bekannt (gemess. $\approx 8,9$ )
<b>American Reagent Lot 7202</b>	100,0	-	-	-	-	+	ad 1000 ***)	10	nicht bekannt (dekl. 6,0-9,5)	nicht bekannt (gemess. $\approx 8,0$ )
<b>Köhler Ch. 961301 981731</b>	250,0	0,100	+ *)	+ *)	-	+ *)	ad 1000,0 **)	25	nicht bekannt	nicht bekannt (gemess. $\approx 9,0$ )
<b>Anfarm Lot 1201/04/ 2002</b>	250,0	-	-	-	-	-	ad 1000	25	nicht bekannt	nicht bekannt (gemess. $\approx 7,0$ )
<b>Apoteks- bolaget Lot 704X2372</b>	150,0	-	-	-	-	6,00	ad 1000	15	nicht bekannt	8,2-8,8 (dekl.) (gemess. $\approx 8,3$ )

\* ) deklariert als Additiv ohne Angabe der Menge

\*\*) Glycin und Natriumchlorid sind deklariert als Additiv ohne Angabe der Menge

\*\*\*) Zusatz von Borsäure und / oder Natriumborat zur pH-Einstellung nach USP ohne Mengenangabe

In die Untersuchungen wurden des Weiteren verschiedene Handelspräparate nationaler und internationaler Herkunft einbezogen. Eine Beurteilung der galenischen Zusammensetzung kann hier nur soweit erfolgen, wie diese Angaben durch den Hersteller zugänglich gemacht worden sind.

- Natriumthiosulfat-Injektions- und Infusionslösung Köhler<sup>®</sup> 10 %ig und 25 %ig:  
Zusatz von Phosphat, NaOH, NaCl, pH  $\approx$  9
- Natriumthiosulfat Injektionslösung American Reagent<sup>®</sup> 10 %ig:  
Zusatz von Natriumborat und Borsäure (in Europa obsolet), pH  $\approx$  8
- Natriumthiosulfat Injektionslösung Apoteksbolaget<sup>®</sup> 15 %ig,  
keine Angaben zu stabilisierenden Zusätzen, pH  $\approx$  8,5
- Natriumthiosulfat Injektionslösung Anfarm<sup>®</sup> 25 %ig;  
keine Angaben zu stabilisierenden Zusätzen, pH  $\approx$  8

Die *Konzentrationsangabe* für Handelspräparate als x %, z. B. 10 %ige Natriumthiosulfat-Injektionslösung, entspricht abweichend von der IUPAC-Nomenklatur x g Natriumthiosulfat-Pentahydrat in 100 mL Wasser [m/V]. Diese kommerziell übliche Prozentangabe wurde in der Arbeit aus Gründen der Einheitlichkeit, abweichend von der Nomenklatur der IUPAC, sowohl für alle kommerzielle Injektions- und Infusionslösungen als auch für die Injektionslösungen eigener Herstellung beibehalten und übernommen.

## 3.2 Methodenentwicklung und Untersuchungen

### 3.2.1 Ionenaustauschchromatographie

#### 3.2.1.1 Vorversuche zur Beurteilung von Trennsystemen

Schwefelhaltige Ionen mit relativ geringer Polarisierbarkeit (Sulfit, Sulfat, Thiosulfat) sollen unter Einsatz der Ionenaustauschchromatographie bestimmt werden. Als stationäre Phasen wurden Säulen für eine Technik ohne Suppressor-Einsatz mit basischen Ionenaustauscherfunktionen (quartäre Ammoniumgruppen) und niedriger Kapazität benutzt. Die mobile Phase wurde unter Berücksichtigung einer guten Auflösung, quantifizierbarer Peakformen und geringer Eigenleitfähigkeit ausgewählt. Dazu wurden verschiedene Elutionsmittel getestet. Die Probeionen wurden einzeln, im Gemisch und in niedrigen Konzentrationen an Sulfat und Sulfit neben Thiosulfat untersucht. Für Sulfit wurde neben dem unstabilisierten Ion, welches rasch zu Sulfat oxidiert wird, auch eine Stabilisierung mit Methanol und Formaldehyd getestet.

Tab. 5: Übersicht der getesteten chromatographischen Systeme für die Ionenaustauschchromatographie.

Eluent	Flussrate, Temperatur	Säule *)	Bemerkungen
1,5 mmol/L Phthalsäure $\pm$ 1,0 mmol/L (Abb.), Acetonitril 2,5 % $\pm$ 2,5 % (v/v), 1,5 mmol/L TRIS, pH = 4,0	1,50 mL/min 1,00 mL/min RT (22 °C)	GAT 013	schlechte Peakform und Peaksymmetrie, Auflösung Sulfat / Thiosulfat ungenügend, Erhöhung des Acetonitril-Anteils verbessert die Auflösung, jedoch nicht die Peakform, bei höherer Phthalsäure-Konzentrationen Verbesserung, NWG neben hohen Thiosulfat-Konzentrationen ungenügend, ohne ACCN und TRIS Verschlechterung der BL $\rightarrow$ für Sulfit bedingt geeignet

3 mmol/l Phthal- säure, 5 % (v/v) Acetonitril, TRIS 3 mmol/L pH = 3,9	1,50 mL/min 1,00 mL/min 0,75 mL/min 30 °C / 50 °C / RT (22 °C)	GAT 013	Auflösung von Sulfat und Thiosulfat nicht vollständig, besonders bei hohen Konzentrationsunterschieden, bei Reduktion der Flussrate, Temperatur- erhöhung oder – erniedrigung weitere Verschlechterung der Peakform von Sulfat, NWG neben Thiosulfat ungenügend (ca. 3000 µg/mL in 10 %iger Lösung) → für Sulfit bedingt geeignet, Empfindlichkeit einer Sulfit-Kalibrierung halbiert sich bei Vermessen in Thiosulfat-Matrix
0,9 mmol/L Octan- sulfonsäure, 20 mmol/L Borsäure pH = 6,0 (Abb.)	1,00 mL/min 0,75 mL/min 0,50 mL/min 0,25 mL/min 30 °C	GAT 201	Peakform ist gut, bei höheren Thiosulfat- Konzentrationen tritt ein „Leading“ und Interferenz mit Sulfat auf, Sulfit ist nicht von 2 Systempeaks trennbar, bei niedrigeren Flussraten erfolgt Verbesserung der Auflösung Sulfit / Systempeak, jedoch mit einer Erhöhung der Retentionszeit von Thiosulfat auf bis zu 84 min → ungeeignet
1,0 mmol/L Nona- sulfonsäure, 27,5 mmol/L Bor- säure, 0,03 % HCHO pH = 6,0	0,75 mL/min 0,50 mL/min 0,30 mL/min 30 °C	GAT 201	Auflösung der Ionen gut, jedoch zu starke Beeinflussung der Peakform und Auswertbarkeit bei Sulfit und Sulfat durch negative Systempeaks → ungeeignet
4 mmol/L Salicyl- säure, 8 mmol/L TRIS, pH = 8,5	1,50 mL/min 1,00 mL/min 30 °C	Hamilton AR	die Auflösung ist gut, negative Systempeaks interferieren jedoch mit Sulfit und Sulfat, Sulfit wird schlecht von positivem Systempeak getrennt, z. T. treten Doppelpeaks oder Schultern bei Thiosulfat und Sulfat auf, NWG Sulfit und Sulfat neben Thiosulfat sehr hoch, → ungeeignet

1 mmol/L KHP pH = 6,0	2,00 mL/min 1,00 mL/min 30 °C	Hamilton AR	starke Störung des Chromatogramms durch Systempeaks, besonders bei Sulfit, schlechte Auflösung von Sulfat / Thiosulfat → ungeeignet
1 mmol/L PHBA / 0,25 mmol PHBA, 1 % (v/v) Methanol, DEEA q.s. pH = 9,6	1,00 mL/min 1,50 mL/min 1,30 mL/min 30 °C	Hamilton AR	keine Trennung von Sulfat und Sulfit, bei hoher PHBA Konzentration schlechte Peakformen, Störung durch Systempeaks → ungeeignet
0,25 mmol/L PHBA , 1 % (v/v) Methanol, DEEA q.s. pH = 9,6	1,50 mL/min 50 °C	GAT 201	Auflösung ausreichend, Selektivitätsänderung: Sulfat eluiert vor Sulfit und Thiosulfat, Kalibrierung bei Konzentrationen im unteren ppm Bereich möglich, aber Reproduzierbarkeit der Peakhöhe unbefriedigend, Basislinie nicht stabil reproduzierbar, bei Überschuss an Thiosulfat ungenügende Auflösung und Chromatogramm nicht auswertbar, NWG ungenügend → ungeeignet
0,50 mmol/L PHBA , 1 % (v/v) Methanol, DEEA q.s. pH = 9,6	1,00 mL/min 50 °C	GAT 201	Retentionszeiten verkürzen sich, Peakform verbessert sich, Auflösung bei kleinen Konzentrationen gut, bei Überschuss an Thiosulfat ungenügende Auflösung und Chromatogramm nicht auswertbar, NWG ungenügend → ungeeignet
2,5 mmol Phthal- säure pH = 4,1 / pH = 6,6	1,50 mL/min 1,20 mL/min 1,00 mL/min 40 °C / 30 °C / 50 °C	GAT 201	negative Systempeaks beeinflussen Auswertung von Sulfit und Sulfat, NWG neben hohen Thiosulfat-Konzentrationen ungenügend, Erhöhung des pH-Wertes, Temperaturänderungen und Verringerung der Flussrate verschlechtern die Auflösung von Sulfit und positivem Systempeak, → ungeeignet
4 mmol/L KHP pH = 4,0	2,5 mL/min 40 °C	GAT 013	schlechte Auflösung von Sulfat und Sulfit → ungeeignet

10 mmol/ l Natrium- benzoat pH = 7,15	1,00 mL/min 0,25 mL/min 30 °C	GAT 201	Elutionsmittel zu stark, Kapazitätsfaktoren zu gering, Auflösung ungenügend, Verbesserung der Auflösung durch Verringerung der Flussrate, mehrere Systempeaks stören die korrekte Bestimmung von Sulfit → ungeeignet
2,4 mmol/L Natrium- benzoat, 2,4 mmol/L Benzoessäure, 4 % (v/v) Acetonitril pH = 4,1	1,00 mL/min 30 °C	GAT 201	Auflösung relativ gut, Grundrauschen sehr hoch → ungeeignet
2,5 mmol/L Natrium- benzoat, 2,5 mmol/L Benzoe- säure, pH = 4,1	1,00 mL/min 30 °C	GAT 201	durch Verzicht auf Acetonitril wurde das Rauschen eliminiert, Auflösung gut bei relativ hoher Retentionszeit für Thiosulfat (28 min), Systempeaks interferieren nicht unmittelbar, Nachweisgrenze für Erwartungswerte akzeptabel (oberer ppb-Bereich) → endgültiges Trennsystem

\*) s. Methoden und Materialien

Eine Interferenz typischer Bestandteile von Injektionslösungen, wie Chlorid und Phosphat, wurde überprüft. Es wurde ein Leitfähigkeitsdetektor benutzt, teilweise wurde die Peakidentität durch einen UV/Vis-Detektor bestätigt (indirekte Detektion).

Für die meisten getesteten chromatographischen Systeme wird deutlich, dass oftmals Basislinienstörungen, die teilweise auch erst bei höheren Thiosulfat-Konzentrationen auftraten, und positive als auch negative Systempeaks die qualitative und quantitative Auswertung der Chromatogramme stören. Die Stabilisierung von Sulfit mit Methanol oder Formaldehyd / NaOH verursachte einige der genannten Systempeaks. Eine Bestimmung ohne Sulfitstabilisierung erwies sich jedoch als nicht durchführbar. In diesem Konzentrationsbereich wird Sulfit rasch zu Sulfat oxidiert. Sulfit entzieht sich somit dem Nachweis und verfälscht die Sulfatbestimmung.

Die Verdünnung, die notwendig war, um auswertbare Chromatogramme zu erhalten, war oftmals ebenfalls so hoch, dass der Erwartungswert an Zersetzungsproduktkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze lag. Bei einigen Systemen war die



erreichte Auflösung nicht genügend, besonders bei höheren Thiosulfat-Konzentrationen führte die Verbreiterung der Peakbasis zu einer Verschlechterung.

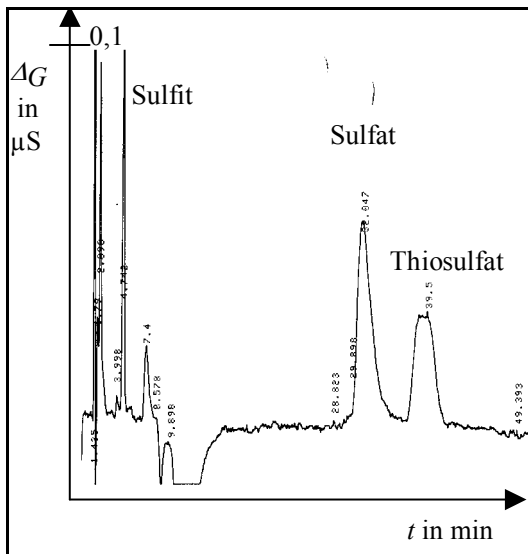


Abb. 1: Chromatogramm je 25 µg/mL Sulfite, Sulfat und Thiosulfat, GAT 013, 2,5 mmol/L PHS, 2,5 % AcCN, TRIS, pH = 4,0, 1,5 mL/min.

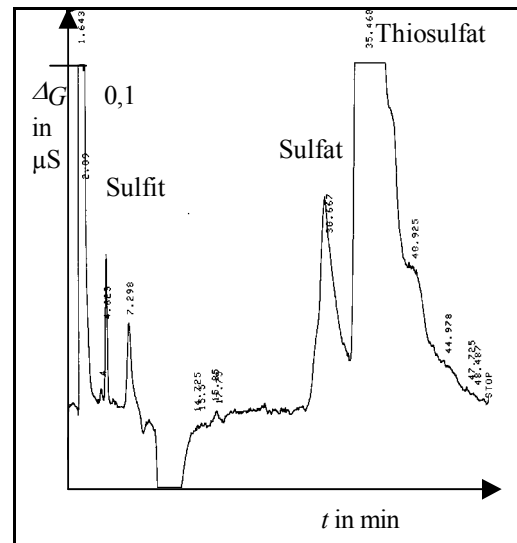


Abb. 3: Chromatogramm 10 %ige Natriumthiosulfat-Lösung 1:200 verdünnt, mit je 10 µg/mL Sulfite und Sulfat dotiert, Bdg. s. Abbildung 2.

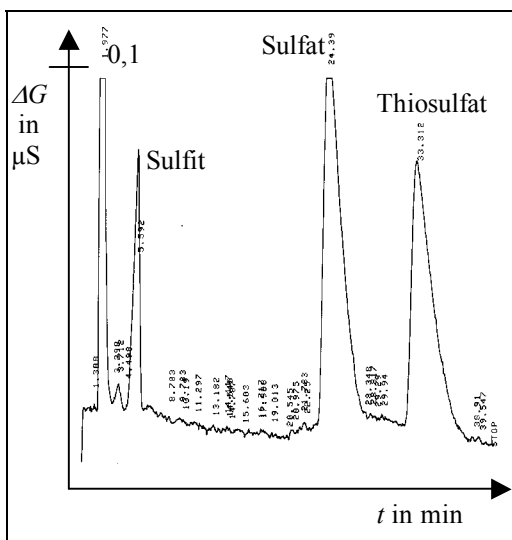


Abb. 2: Chromatogramm je 30 µg/mL Sulfite, Sulfat und Thiosulfat, GAT 201 0,9 mmol/L Octansulfonsäure, 20 mmol/L Borsäure pH = 6,0, 1 mL/min.

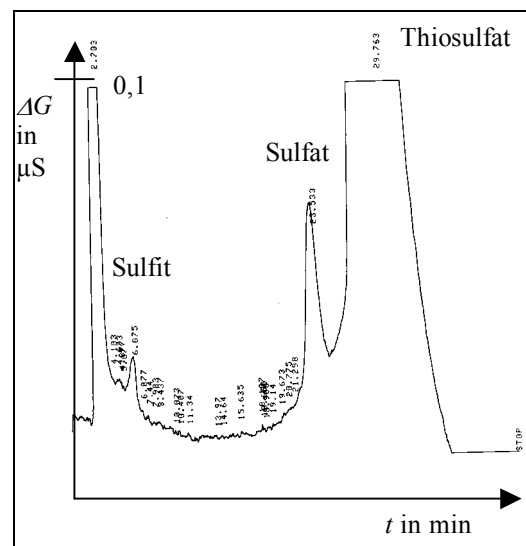


Abb. 4: Chromatogramm 10 %ige Natriumthiosulfat-Lösung 1:100 verdünnt, mit je 20 µg/mL Sulfat und Sulfite dotiert, Bdg. s. Abbildung 3.

Als effektivste Stabilisierung erwies sich eine alkalische Formaldehyd-Lösung. Die Konzentration an HCHO und NaOH wurde als Kompromiss aus bestmöglicher Stabilisierung und geringster Auswirkung durch Systempeaks variiert und auf die

endgültigen Konzentrationen festgelegt. Bei zu hoher HCHO-Konzentration stören große Nebenpeaks die Sulfitbestimmung. Eine Aufreinigung des Formaldehyds mit einem Ionenaustauscher erbrachte keine Verbesserung. Vorteilhaft erweist sich bei der Sulfitstabilisierung durch Formaldehyd die Selektivitätsänderung des Methylsulfonats gegenüber dem unstabilisierten Sulfit. Dadurch wird eine Trennung von Chlorid und Sulfit möglich, da sich der Kapazitätsfaktor von Sulfit von  $k' = 3,15$  auf  $k' = 1,77$  verringert.

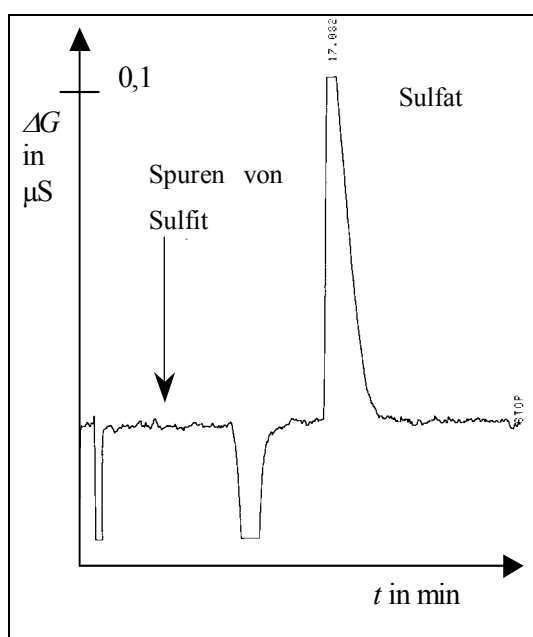


Abb. 5: Chromatogramm 30 µg/mL Sulfit, unstabilisiert, frisch verdünnt, fast vollständig zu Sulfat oxidiert, Eluent 2,5 mmol/L Benzoesäure, 2,5 mmol/L Natriumbenzoat, pH 4,1, 1 mL/min, Säule GAT 201.

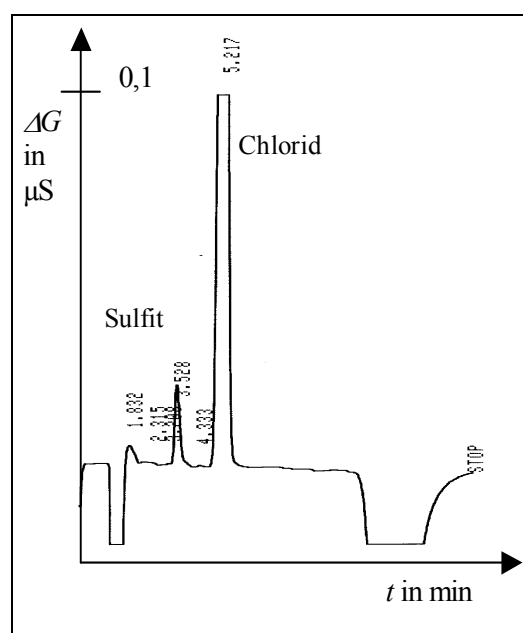


Abb. 6: Chromatogramm 10 µg/mL Chlorid neben 2 µg/mL Sulfit, stabilisiert, Eluent 2,5 mmol/L Benzoesäure 2,5 mmol/L Natriumbenzoat, pH 4,1, 1 mL/min, Säule GAT 201.

Als geeignetes Trennsystem für die Analytik von Sulfit und Sulfat im ppb- / ppm-Bereich, wie sie als Zersetzungsprodukte von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen auftreten, wurde das Benzoesäure / Benzoat-System gefunden. Hier entsprechen Auflösungen und Nachweisgrenzen den gestellten Anforderungen. Auch bei hohen Thiosulfat-Konzentrationen ist eine Quantifizierung möglich. Eine Simultanbestimmung von Sulfit und Sulfat kann jedoch auf Grund der stark unterschiedlichen Konzentrationen in den Injektionslösungen und der somit benötigten abweichenden Schreiber-Verstärkungs-Einstellungen nicht erfolgen.

### 3.2.1.2 Parameter der Bestimmung von Sulfit

Für die Bestimmung von Sulfat und Sulfit in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen wurde ein Eluent der Zusammensetzung 2,5 mmol/L Benzoesäure und 2,5 mmol/L Natriumbenzoat mit einem pH-Wert von 4,1 verwendet. Als stationäre Phase wurde ein basischer Ionenaustauscher auf pH-Wert stabiler Polyacrylharz-Basis mit einer Kapazität von 0,04 meq/g und sphärischen Teilchen von 10 µm bei einer Säulendimension von 100 x 4,6 mm gewählt. Die Flussrate wurde auf 1,0 mL/min, die Temperatur auf 30 °C festgelegt [Methode IC1].

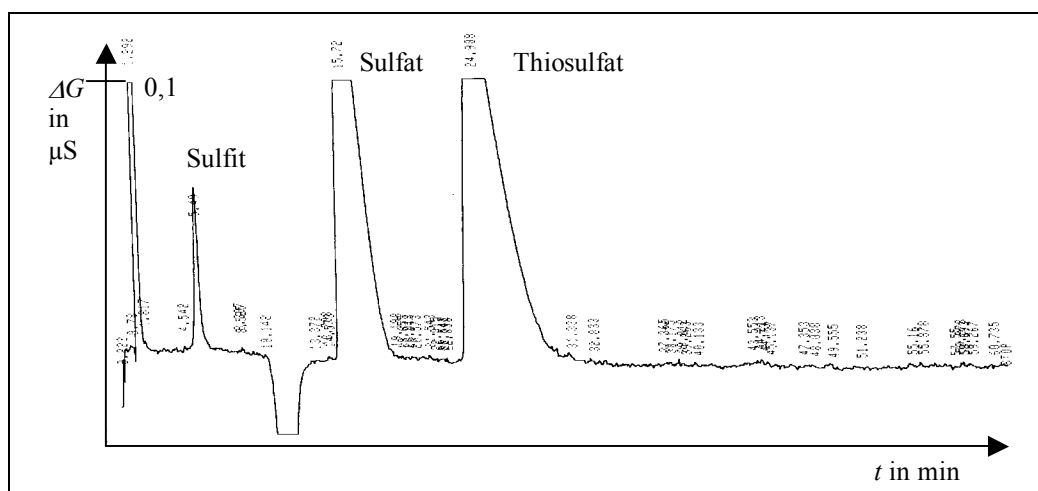


Abb. 7: Chromatogramm von 36 µg/mL Sulfit, 58 µg/mL Sulfat und 83 µg/mL Thiosulfat, unstabilisiert, Methode IC1.

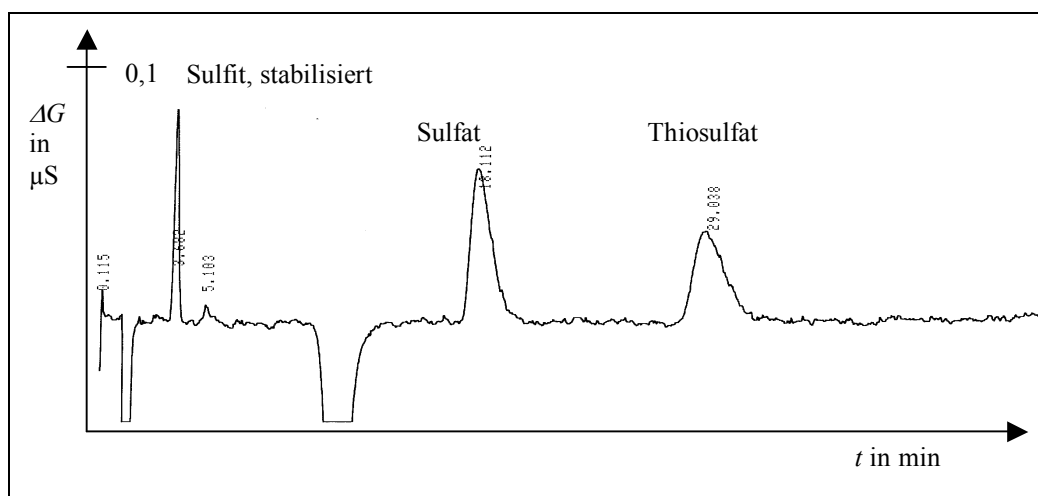


Abb. 8: Chromatogramm von je 10 µg/mL Sulfit, Sulfat und Thiosulfat, stabilisiert, Methode IC1.

Tab. 6: Chromatographische Kennzahlen Methode IC1.

Chromatographische Kennzahlen					
Ion	$t_R$ in min	$VK_{tR}$ in % (n)	$k'$	$\alpha$	$S_s$
Phosphat	3,00	5,4 (5)	1,31	-	1,00
Sulfit, HCHO-Stab.	3,55	2,2 (5)	1,73	1,18	1 bis 1,3
Chlorid	5,12	1,3 (4)	2,94	1,70	1,1
Sulfat	17,65	2,7 (5)	12,58	4,28	1,5 bis 2
Thiosulfat	24,19	10,9 (5)	17,61	1,40	$\geq 1,6$
<i>Sulfit unstabilisiert</i>	<i>5,19</i>	<i>5,1 (3)</i>	<i>2,99</i>	<i>1,02 (zu Cl)</i>	<i>1,2 bis 1,5</i>

Zur Stabilisierung wurde eine Lösung mit einer Endkonzentration von 0,185 % (v/v) Formaldehyd und 1 mol/L Natriumhydroxid herangezogen. Sowohl die Sulfit-Stammlösungen als auch die Verdünnungsreihe und die Blindproben wurden damit hergestellt und verdünnt, so dass zu jeder Zeit eine Zersetzung von Sulfit minimiert wurde.

Für die Messung von Sulfit muss der Chromatogramm-Ausschnitt stark verstärkt werden. Da die Basislinie nicht im unter diesen Bedingungen registrierten Intervall um Null bleibt, muss vor Messbeginn eine manuelle Nullpunktkorrektur in den negativen Bereich erfolgen. Vor allen Messungen wurde der Blindwert auf Konstanz überprüft. Durch gleichförmige Equilibrierung und Gebrauchszeitraum von Stabilisatorlösung und Stammlösungen wurde die nötige Reproduzierbarkeit des Blindwertes erreicht ( $VK_{Area} = 6,38 \%$ ,  $n = 10$ , unter Wiederholbedingungen 3 d).

Es wurde überprüft, in wie fern sich die Empfindlichkeiten einer Kalibrierung von Sulfit in Wasser und von Sulfit in hochkonzentrierter Thiosulfat-Matrix voneinander unterscheiden. Die Empfindlichkeit verringert sich in der Matrix auf ein Fünftel. Die Nachweisgrenze wird durch hohe Konzentrationen an Thiosulfat erhöht. Der Achsenabschnitt ist in beiden Fällen signifikant und entspricht dem Blindwert.

Auf Grund dieser Erkenntnisse wurde zur Bestimmung von Sulfit in den Injektionslösungen eine Kalibrierung von Sulfit neben Natriumthiosulfat durchgeführt. Als geeignete, niedrigstmögliche Verdünnung, um ein auswertbares Chromatogramm zu erhalten, wurde ein Verdünnungsverhältnis von 1:20 ermittelt.

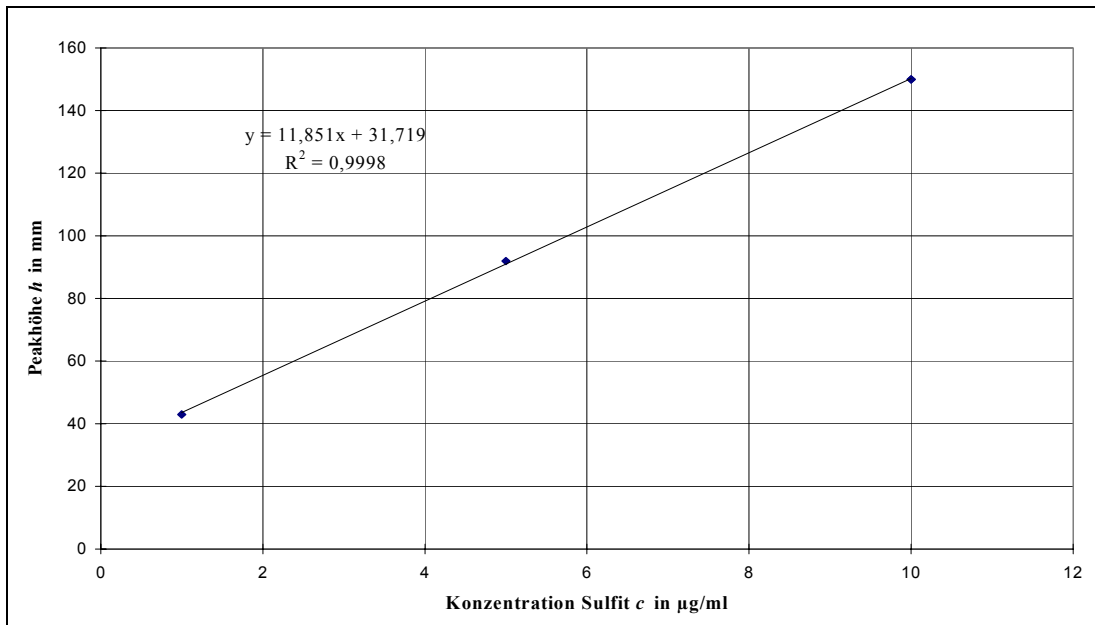


Abb. 9: Beispiel einer Kalibrierfunktion einer ionenchromatographischen Bestimmung von Sulfid in Reinstwasser, mit HCHO /NaOH stabilisiert.

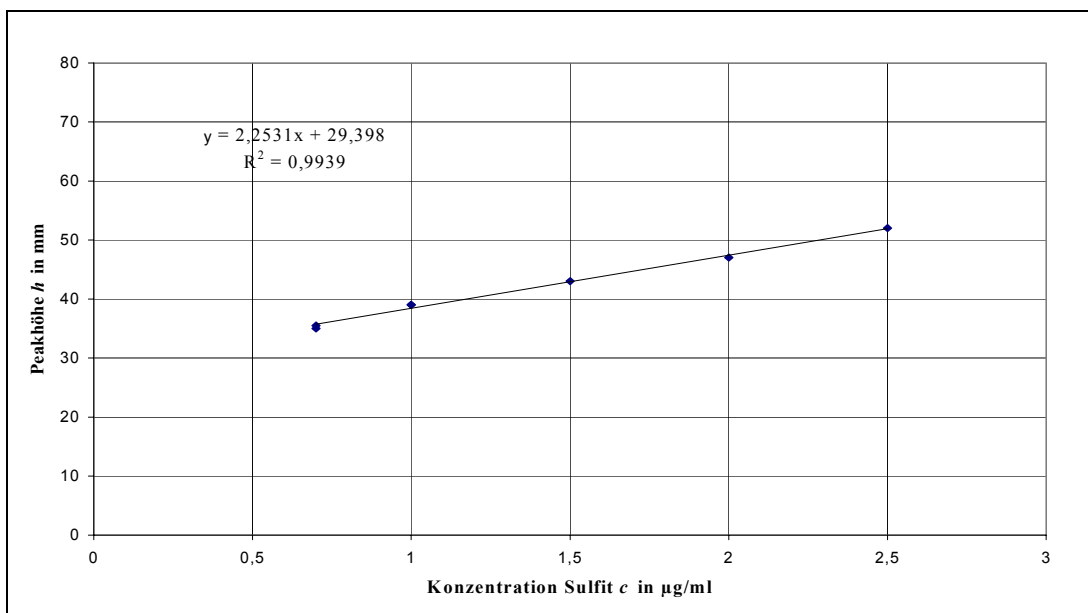


Abb. 10: Beispiel einer Kalibrierfunktion einer ionenchromatographischen Bestimmung von Sulfid in einer Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL, 1:20 verdünnt (Angabe  $c$  entspricht Konzentration in der vermessenen Probe), Probe mit HCHO /NaOH stabilisiert.

Die Kalibrierung wurde als Dreifach-Bestimmung durchgeführt. Gemäß den Vorversuchen mit Injektionslösungen wurde der abzudeckende Konzentrationsbereich ab Nachweisgrenze bis  $\approx 25 \mu\text{g/mL}$  Sulfid, bezogen auf eine unverdünnte 10 %ige Natriumthiosulfat-Injektionslösung, abgeschätzt. Unter Berücksichtigung der

Verdünnung auf 1/20 der ursprünglichen Konzentration entspricht das zu vermessenden Konzentrationen von der Nachweisgrenze der Methode bis zu 1,25 µg/mL Sulfit in einer Natriumthiosulfat-Matrix mit 0,5 g / 100 mL. Damit die erwartete maximale Konzentration in den mittleren Kalibrierbereich fällt und auch der untere Konzentrationsbereich abgedeckt ist, wurde der kalibrierte Bereich wie folgt gewählt: Als Lösung mit der niedrigsten Konzentration wurde 0,25 µg/mL Sulfit (entspricht 5 µg/mL in Lösung mit 10 g / 100 mL) vermessen. Der Wert liegt nahe an der Nachweisgrenze, der resultierende Messwert liegt noch oberhalb des kritischen Bereiches. Als oberer Wert der Verdünnungsreihe wurde 2 µg/mL Sulfit (entspricht 40 µg/mL in Lösung mit 10 g / 100 mL) vermessen. Es wurde eine Abstufung von sieben Konzentrationen gewählt. Der Blindwert wurde sowohl bei der Kalibrierung als auch bei der Probenmessung berücksichtigt.

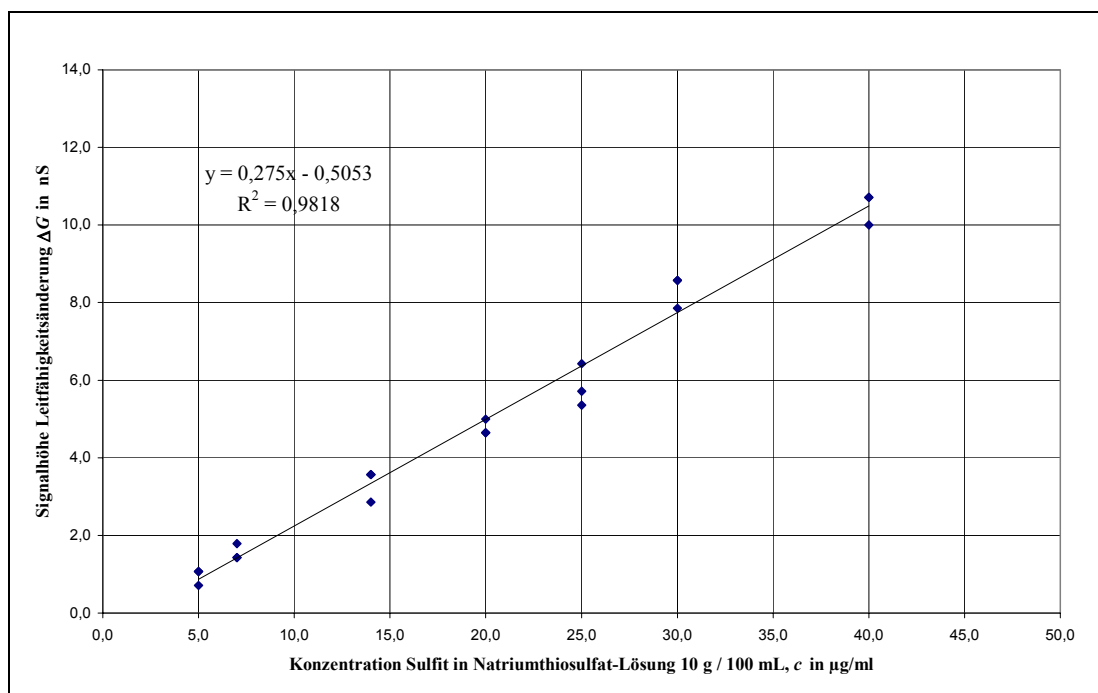


Abb. 11: Kalibrierung Sulfit in Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL, ionenchromatographische Bestimmung Methode IC1.

Die Steigung ist hoch signifikant, der Achsenabschnitt ist signifikant ( $VK_a = 39\%$ ). Es liegen gemäß den Residuen keine Hinweise auf einen nichtlinearen Zusammenhang vor. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,9909, die Korrelation ist hoch signifikant ( $P < 0,0005$ ). Durch das Modell werden über 98 % der Gesamtstreuung erklärt. Die relative Verfahrensstandardabweichung beträgt 8,3 %. Die mittlere relative Standardabweichung der Peakhöhe beträgt unter Wiederholbedingungen 9,98 %.

Tab. 7: Grenzwerte der Kalibrierung IC1 Sulfid.

Wert, bezogen auf die unverdünnte 10 %ige Injektionslösung		absoluter Wert in verdünnter Lösung	Einheit
$\Delta a$	0,57		nS
$y_k$	0,07		nS
$x_{NG}$	2,08	0,10	$\mu\text{g/mL}$
$x_{EG}$	4,17	0,21	$\mu\text{g/mL}$
$x_{BG}$	7,00	0,35	$\mu\text{g/mL}$

Die Bestimmungsgrenze für Sulfid in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung beträgt  $7,0 \mu\text{g/mL}$  ( $f = 19$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Bei einer Verdünnung von 1 : 20 liegt dies im mittleren ppb-Bereich und entspricht einer Probenkonzentration von  $0,35 \mu\text{g/mL}$  Sulfid neben  $5 \text{ mg/mL}$  Natriumthiosulfat. Bezogen auf das Anion entspricht das einem Verhältnis von etwa 1 : 6500 von Sulfid : Thiosulfat.

Die Nachweisgrenze liegt bei  $2,1 \mu\text{g/mL}$  Sulfid in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung, das entspricht einer Probenkonzentration von  $100 \text{ ng/mL}$ . Der mittlere prozentuale Fehler der Wiederfindung im Bereich des Schwerpunkts der Kalibrierung beträgt 5,8 %. Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt etwa 6 %, das entspricht einer Abweichung von etwa  $\pm 1 \mu\text{g/mL}$ .

### 3.2.1.3 Vermessen von Realproben

Entsprechend der Vorgehensweise bei der Kalibrierung wurden die Ampullenlösungen 1 : 20 verdünnt und mit der  $\text{HCHO} / \text{NaOH}$ -Stabilisatorlösung aufgefüllt. Die Proben wurden sofort vermessen. Die Bestimmung wurde als unabhängige Doppelbestimmung durchgeführt. Zur Kontrolle der Gültigkeit der Kalibrierung wurden in jeder Messserie zwei Standardlösungen mitgeführt. Es wurden keine signifikanten Abweichungen festgestellt. Für jede Messserie wurde ein Blindwert mehrfach bestimmt und berücksichtigt.

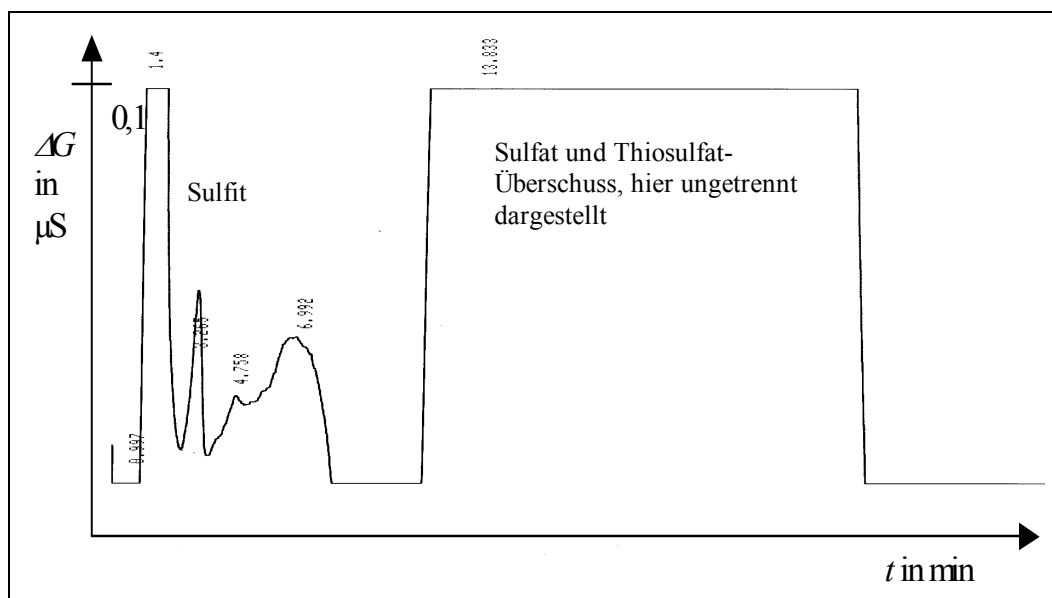


Abb. 12: Beispiel Chromatogramm einer 10 %ige Natriumthiosulfat-Injektionslösung 1:20 verdünnt, HCHO stabilisiert.

In den 10 %igen Injektionslösungen variiert die Sulfitkonzentration von nicht nachweisbaren Mengen (NWG = 2,1  $\mu\text{g/mL}$ ) bis zu Konzentrationen um 20  $\mu\text{g/mL}$  (bezogen auf die Injektionslösung). In den alkalisch stabilisierten Lösungen und den Handelspräparaten konnte kein Sulfit nachgewiesen werden.

In den Ampullen der Rezeptur II konnte nur in der frischen Zubereitung nach 6 Monaten noch Sulfit nachgewiesen, jedoch nicht quantifiziert werden ( $c < \text{BG}$ ). Bei den älteren Chargen wurde kein Sulfit nachgewiesen. Gemäß Rezeptur müssten durch den Zusatz von 100 mg/L Natriumdisulfit im Falle der vollständigen Wiederfindung 54  $\mu\text{g/mL}$  Sulfit in den Chargen II und III nachgewiesen werden können. Dies gilt ebenfalls für die Handelspräparate mit Sulfitzusatz.

Die geringe Menge an bestimmtem Sulfit bzw. der z. T. völlig fehlende Nachweis sind ein Indiz für die entfaltete antioxidative Wirkung mit einhergehender Oxidation des Sulfits zu Sulfat. Für die Handelspräparate war eine Sulfitbestimmung nicht möglich, so dass hier keine Aussage getroffen werden kann.

Bei einigen Lösungen trat zeitweise das Problem auf, dass der Sulfit-Peak an der Flanke des vorderen Systempeaks lag und von geringerer Höhe im Vergleich zum Blindwert war. Eine Überprüfung mit Standardlösungen ergab keinen Fehler im chromatographischen System.



Die Auflösung und Wiederfindungsraten waren im normalen Bereich. Das Phänomen konnte nicht aufgeklärt werden. Bei späterer Wiederholung des Versuches trat die Peakverschiebung nicht auf. Die Robustheit der Methode ist demzufolge limitiert. Bei allen Handelspräparaten wurden keine auswertbaren Chromatogramme erhalten. Es interferieren hier die weiteren Bestandteile der Injektionslösung stärker, als dies bei der Methodenentwicklung angenommen wurde. Dabei handelt es sich vermutlich um hohe Chlorid- und Phosphatkonzentrationen.

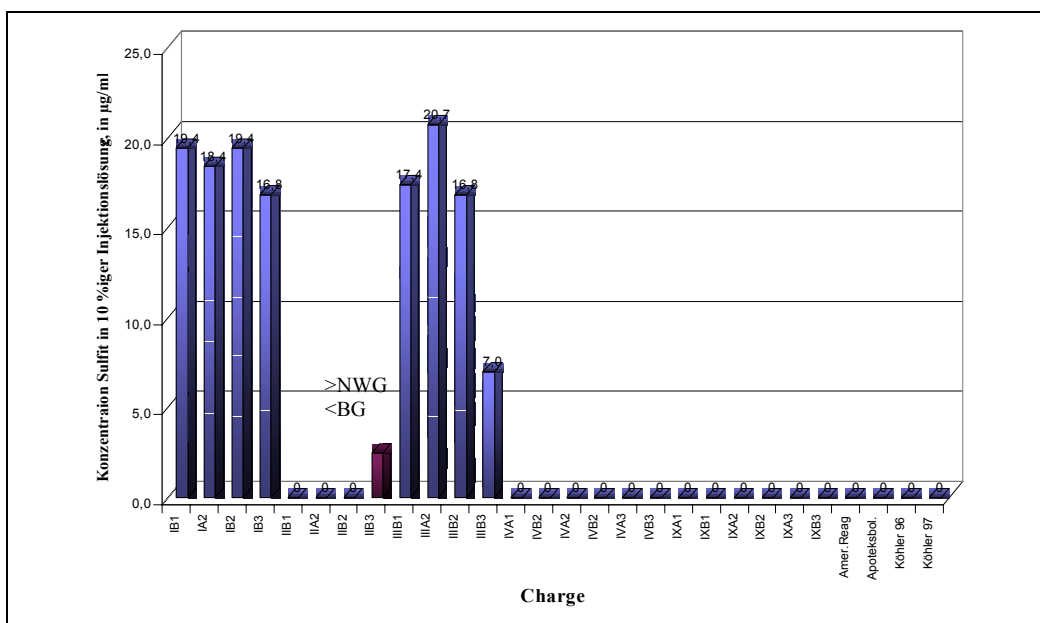


Abb. 13: Konzentration Sulfit in 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen ionenchromatographisch bestimmt.

### 3.2.1.4 Parameter der Bestimmung von Sulfat

Für die Bestimmung von Sulfat konnten die wesentlichen chromatographischen Bedingungen der Sulfitbestimmung unverändert übernommen werden. Die Flussrate und die Elutionsstärke des Fließmittels wurden nicht erhöht, um zu kürzeren Retentionszeiten zu gelangen, da daraus auch eine geringere Auflösung von Sulfat und Thiosulfat resultierte. Dies hätte eine Bestimmung von Sulfat neben dem Thiosulfat-Überschuss verhindert. Lediglich der Schreiberdämpfung und die Nullpunktkorrektur musste den neuen Anforderungen angepasst werden. Die Korrektur in den negativen Bereich konnte entfallen. Die Dämpfung des Integrators wurde etwas erhöht [Methode IC2].

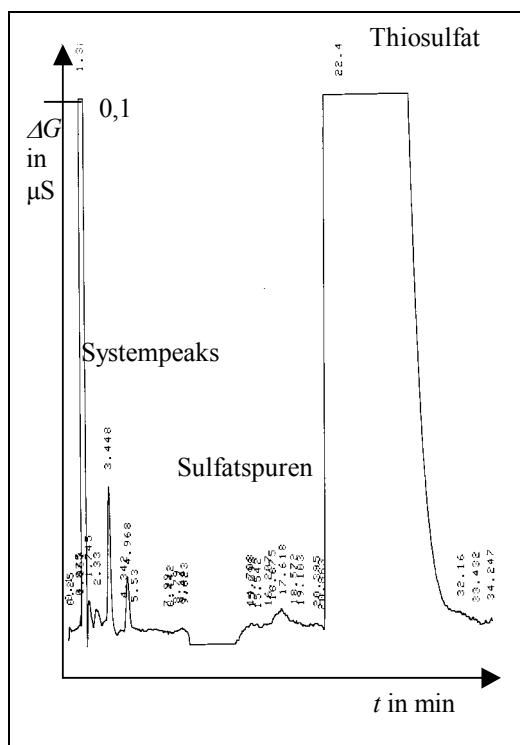


Abb. 14: Chromatogramm Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL undotiert, entspricht dem Blindwert, 1 : 200 verdünnt, stabilisiert, Methode IC2.

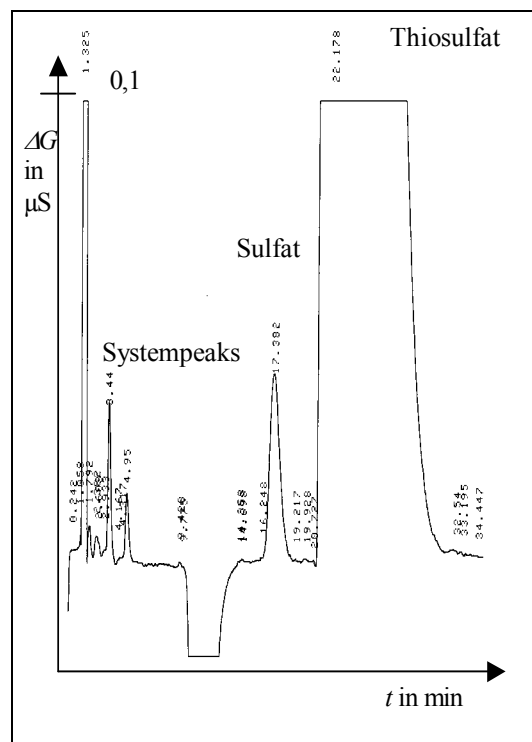


Abb. 15: Chromatogramm Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL mit 300  $\mu\text{g/mL}$  Sulfat dotiert, 1 : 200 verdünnt, stabilisiert, Methode IC2.

Für die Injektionslösungen war eine stärkere Verdünnung auf Grund der höheren, erwarteten Sulfatkonzentrationen notwendig. Eine Simultanbestimmung gleichzeitig mit Sulfat war auf Grund der verschiedenen Konzentrationsverhältnisse nicht möglich. Als optimale Verdünnung für ein auswertbares Chromatogramm bei guter Auflösung des Sulfats vom Thiosulfat-Überschuss wurde ein Verhältnis von 1 : 200 ermittelt. Somit wurde Sulfat im mittleren bis oberen ppb-Bereich neben 0,5 mg/mL Natriumthiosulfat bestimmt.

Die Proben wurden auch hier mit alkalischer Formaldehyd-Lösung stabilisiert, um eine Oxidation des in den Injektions-Lösungen vorhandenen Sulfits zu Sulfat und somit einen systematischen Fehler auszuschließen. Die Kalibrierung wurde als Doppelbestimmung durchgeführt. Es wurden sieben abgestufte Konzentrationen von 25  $\mu\text{g/mL}$  bis 500  $\mu\text{g/mL}$  vermessen. Für alle Messreihen wurde ein Blindwert bestimmt und berücksichtigt.

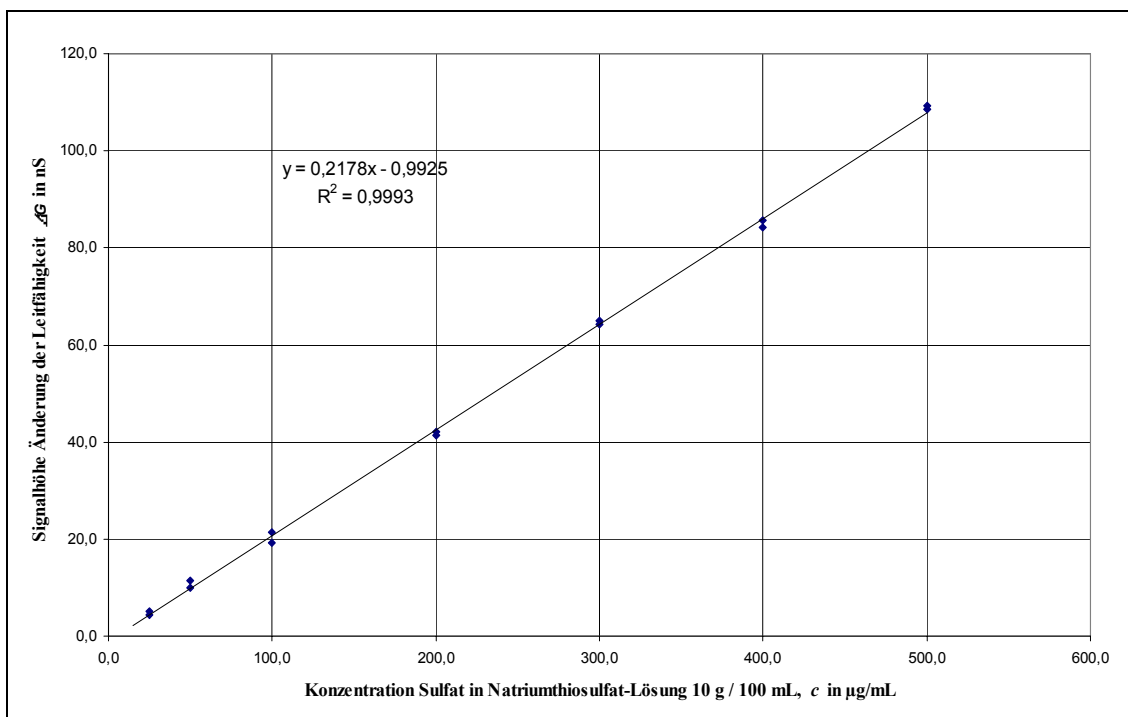


Abb. 16: Kalibrierung Sulfat nach Ionenchromatographische Bestimmung in Natriumthiosulfat-Lösung mit 10 g / 100 mL, nach Verdünnung 1 : 200, Methode IC2.

Die Kalibrierung ergab einen hoch korrelierten, linearen Zusammenhang. Der Residuenplot ergab keinen Hinweis auf einen nichtlinearen Zusammenhang. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,9997, die Korrelation ist hoch signifikant ( $P < 0,0005$ ). Durch das Modell werden über 99,9 % der Gesamtstreuung erklärt. Die relative Verfahrensstandardabweichung beträgt 2,14 %. Die Steigung ist signifikant ( $VK_b = 0,76 \%$ ), der Achsenabschnitt ist nicht signifikant ( $VK_a = 47,0 \%$ ).

Die Bestimmungsgrenze für Sulfat in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung beträgt  $25,8 \mu\text{g/mL}$  ( $f = 12$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Berücksichtigt man die Verdünnung von 1 : 200, so entspricht die Bestimmungsgrenze einer Probenkonzentration von  $0,13 \mu\text{g/mL}$  Sulfat neben  $0,5 \text{ mg/mL}$  Natriumthiosulfat. Die Nachweisgrenze liegt bei  $7,2 \mu\text{g/mL}$  Sulfat in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung. Das entspricht einer Probenkonzentration von  $40 \text{ ng/mL}$ . Der mittlere prozentuale Fehler der Wiederfindung beträgt 5,2 %. Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt etwa 3,6 %. Das entspricht einer Abweichung von etwa  $\pm 3,8 \mu\text{g/mL}$ , bezogen auf die unverdünnte Injektionslösung.

Tab. 8: Grenzwerte der Kalibrierung.

Wert, bezogen auf die unverdünnte 10 %ige Injektionslösung		absoluter Wert in verdünnter Lösung	Einheit
$\Delta a$	1,56		nS
$y_k$	1,56		nS
$x_{NG}$	7,15	0,04	$\mu\text{g/mL}$
$x_{EG}$	14,31	0,07	$\mu\text{g/mL}$
$x_{BG}$	25,85	0,13	$\mu\text{g/mL}$

### 3.2.1.5 Vermessen von Realproben

Die Injektionslösungen der Ampullen wurden ebenfalls 1 : 200 verdünnt und mit Formaldehyd stabilisiert. Höherkonzentrierte Lösungen wurden entsprechend auf eine Natriumthiosulfat-Konzentration von 0,5 mg/mL verdünnt (25 %ige Lösung 1 : 500; 15 %ige Lösungen 1 : 300). Für Werte oberhalb des Kalibrierbereiches wurde eine zusätzliche 1 : 1 Verdünnung und eine Einstellung auf die Natriumthiosulfat-Konzentration von 0,5 mg/mL mit Stammlösung vorgenommen. Es erfolgte eine unabhängige Doppelbestimmung. Die Auswertung erfolgte über die Peakhöhe. Zur Kontrolle der Gültigkeit der Kalibrierung wurden auch in jeder Messserie zwei Standardlösungen mitgeführt. Es wurden keine signifikanten Abweichungen festgestellt.

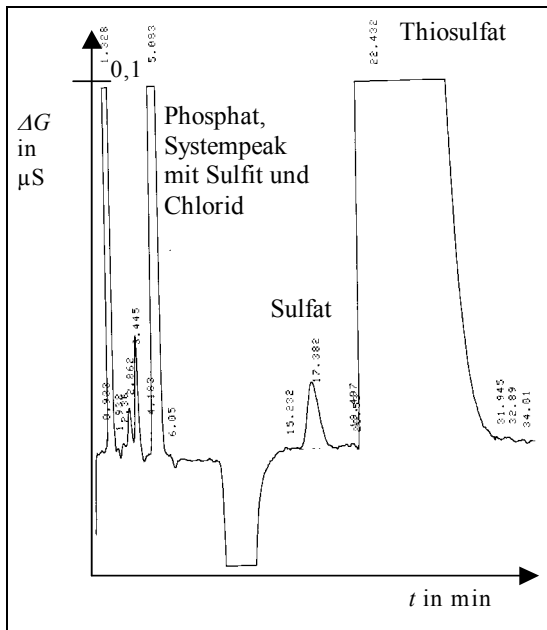


Abb. 17: Chromatogramm 10 %ige Natriumthiosulfat-Injektionslösung Köhler®, Charge 961911, 1 : 200 verdünnt, stabilisiert, Methode IC2.

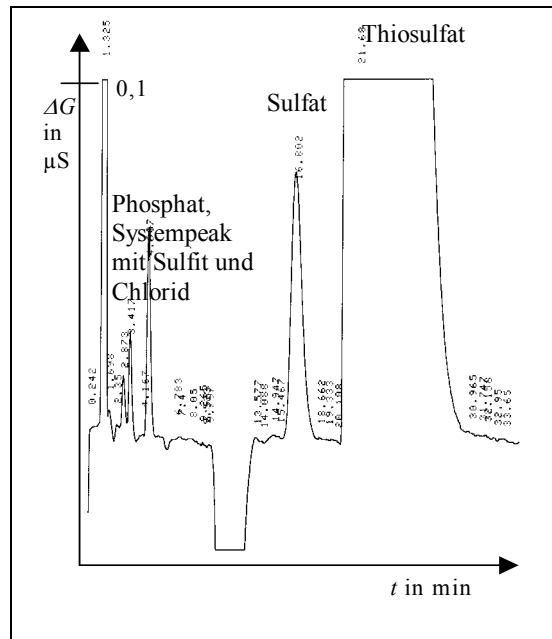


Abb. 18: Chromatogramm 10 %ige Natriumthiosulfat- Injektionslösung, Charge IIB1  
1 : 200 verdünnt, stabilisiert, Methode IC2.

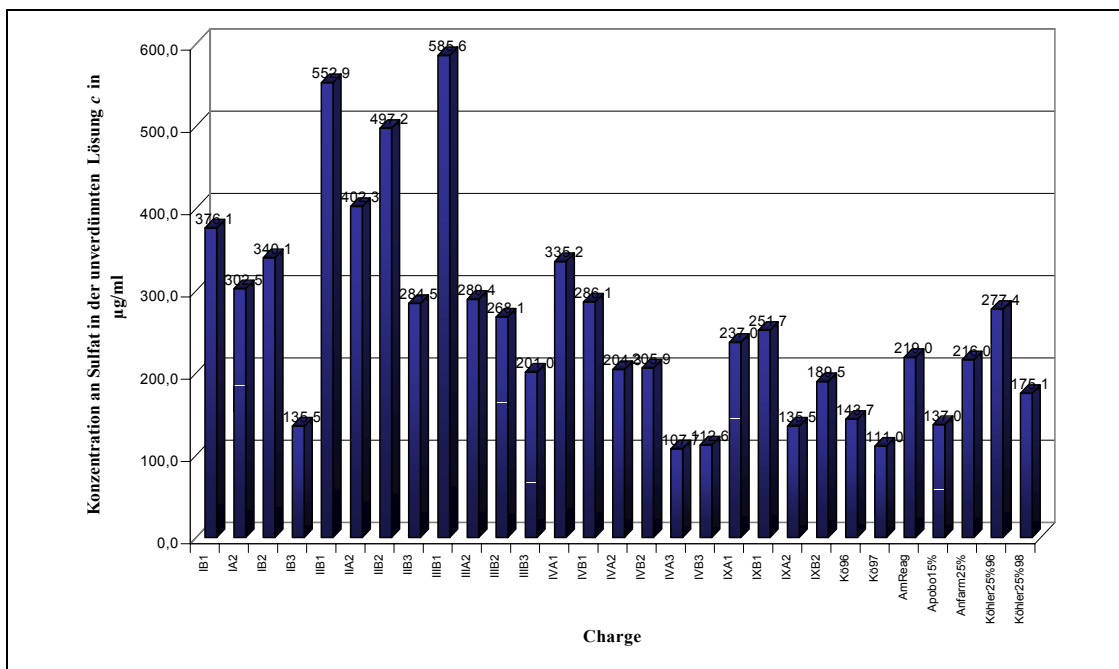


Abb. 19: Konzentration Sulfat, berechnet auf die unverdünnten Natriumthiosulfat-Injektionslösungen, nach ionenchromatographischer Bestimmung, Methode IC2.

Die Konzentration von Sulfat in den 10 %igen Injektionslösungen bewegt sich zwischen 108 µg/mL und 586 µg/mL Sulfat in der unverdünnten Injektionslösung. Alle Werte liegen oberhalb der Bestimmungsgrenze. In den alkalisch stabilisierten Lösungen und einigen Handelspräparaten wurde etwas weniger Sulfat bestimmt. In den Ampullen der Rezeptur II und III wurde die höchste Konzentration ermittelt. Es zeigt sich eine Zunahme von Sulfat im Laufe der Lagerung. Der Unterschied zwischen den sterilfiltrierten und sterilisierten Chargen fällt uneinheitlich aus.

### **3.2.2 Ionenpaarchromatographie mit UV/Vis-Detektion**

#### **3.2.2.1 Vorversuche zur Charakterisierung der Methode – Polythionatbestimmung**

Die Polythionate zeichnen sich im Vergleich zu anderen schwefelhaltigen Ionen, wie z. B. Sulfat oder Sulfit, durch eine hohe Polarisierbarkeit aus. Ihre Affinität zu basischen Ionenaustauschern ist so hoch, dass sie sehr stark retardiert werden und nur unter extremen Chromatographiebedingungen eluiert werden können. Eine geeignete Alternative zur Bestimmung von Polythionaten stellt die Ionenpaarchromatographie dar.

Es wurden zwei Säulen mit octadecylsilanisiertem Kieselgel unterschiedlicher Abmessungen (125 mm, 250 mm) sowie eine Säule auf Kieselgelbasis mit zwischenständiger Amidgruppe und endständigem Hexadecylgruppe zur Methodenentwicklung herangezogen. Als RP18 Phase wurde ein Säulenmaterial mit relativ hoher Kohlenstoffbeladung ( $\approx 21,6\%$  C,  $4,09\text{ }\mu\text{mol/m}^2$ ) benutzt. Die RP Amide C16 Phase weist im Vergleich zur herkömmlichen Umkehrphase eine geringere Hydrophobizität und mittlere Kohlenstoffbeladung auf ( $11,2\%$  C,  $2,6\text{ }\mu\text{mol/m}^2$ ) und ist besonders zur Trennung polarer Komponenten geeignet. Alle Phasen besitzen ein Endcapping restlicher Silanolgruppen.

Es wurde Tetrabutylammoniumhydroxid als lipophiles quartäres Alkylamin ausgewählt. Der pH-Wert wurde mit Phosphorsäure eingestellt, um die UV-Transparenz der mobilen Phase zu erhalten. Zur Verbesserung der Peakform und Verringerung der Retention bei der Trennung der divalenten Ionen wurde Natriumcarbonat als anorganischer Modifikator zugesetzt. Zur Modifikation der Retentionszeit wurde mit Acetonitril-Wasser-Gemischen gearbeitet. Acetonitril steht – bei Annahme des dynamischen Austauschers – als Partner im kompetitiven Gleichgewicht in Konkurrenz zu den

lipophilen Ionen bei der Besetzung der freien Stellen am Austauscher. Bei Annahme der Gültigkeit des Modells einer Umkehrphasentrennung von neutralen Ionenpaaren kann es als lipophiler Bestandteil in der Beeinflussung der Verteilung zwischen mobiler und stationärer Phase angesehen werden. Eine Erhöhung des Acetonitril-Anteils resultiert in einer geringeren Retardierung der Polythionate. Der Einsatz eines Acetonitril-Gradienten kam auf Grund einer verstärkten Retention von höheren Polythionaten bei steigender Zahl an S-Atomen in Betracht.

Zur Testung der Trennsysteme wurden zunächst die relevanten schwefelhaltigen Ionen im mittleren ppm-Bereich untersucht. Zu diesem Zweck wurden Pentathionat und Hexathionat synthetisiert, da diese Verbindungen nicht kommerziell erhältlich sind. Trithionat wurde über Sulfitolyse von Tetrathionat erzeugt. Zur Beurteilung der Selektivität wurde neben Thiosulfat und Polythionaten auch das chromatographische Verhalten von Sulfit, Sulfid und Polysulfiden untersucht. Sulfat lässt sich auf Grund seiner fehlenden UV-Absorption nicht bestimmen. Zur Detektion wurde ein DAD im UV-Bereich benutzt. Er diente auch zur Überprüfung der Peakreinheit.

#### **3.2.2.2 Methodenentwicklung - Säule RP18 250 x 4 mm**

Um das Trennverhalten der Ionen und die Selektivität der Methode zu bestimmen, wurden die entsprechenden Verbindungen einzeln und im Gemisch injiziert. Als Startbedingung wurde eine ODS RP18 Säule 250 x 4 mm benutzt. Zu Beginn wurde mit Ionenpaarbildner enthaltendem Solvens mit 30 % Acetonitril-Gehalt eluiert. Da sich mit zunehmender Lipophilie der Ionen die Retentionszeiten stark vergrößern, wurde die Konzentration des Ionenpaarbildners und des anorganischen Modifikators in einem linearen Gradienten innerhalb von 10 min auf Null verringert. Der Acetonitril-Gehalt wurde bis 25 min bei 30 % (v/v) belassen. Dann wurde mit reinem Acetonitril eluiert. Je nach injizierten Spezies wurde bei kürzeren Retentionszeiten ein Lauf auch vorzeitig beendet und mit Acetonitril konditioniert.

Die Injektion von Lösungen der Ionen einzeln und im Gemisch zeigt, dass Sulfid (beim bestehenden pH-Wert auf Grund seines hohen pKs-Wertes als Hydrogensulfid vorliegend) vor Sulfit und Thiosulfat eluiert wird. Die Zersetzungsprodukte der Natriumsulfid-Lösung verdeutlichen die an der Luft rasch ablaufende Oxidation. Polythionate und Polysulfide wurden hier nicht detektiert. Der Peak bei 18 min ist ein konstant wiederkehrender Systempeak.

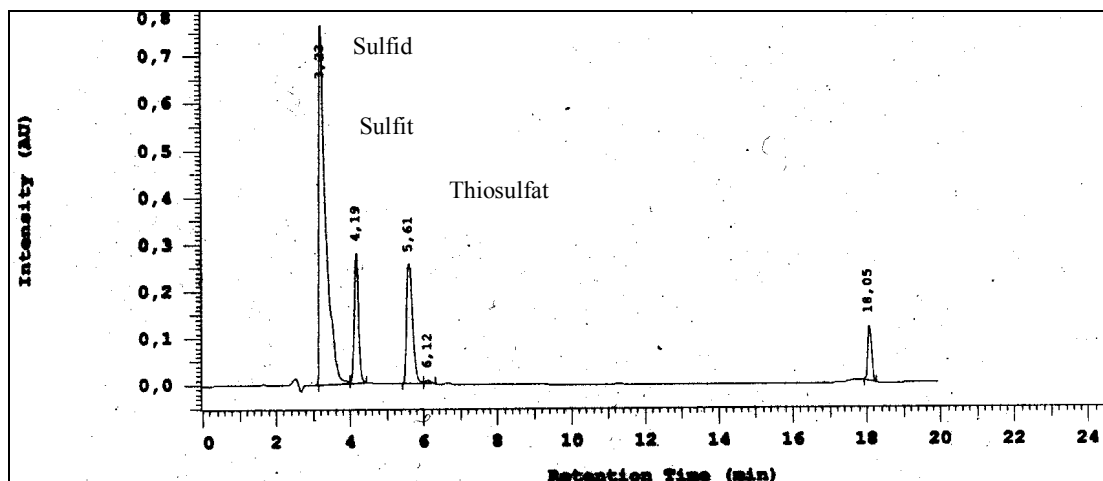


Abb. 20: Chromatogramm Sulfid, Sulfit und Thiosulfat (Systempeak  $\approx 18$  min), Methode IPC1, Säule RP18 250x4, Injektion einer wässrigen Lösung  $\text{Na}_2\text{S}$  100  $\mu\text{g/mL}$ .

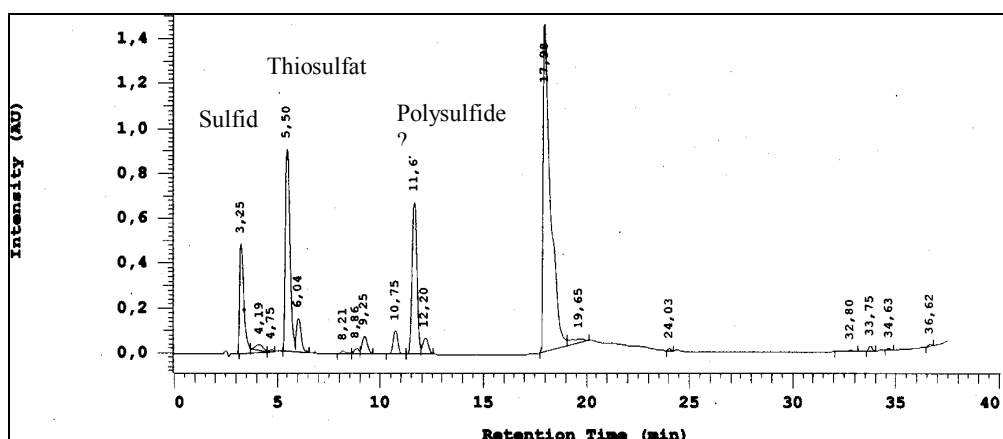


Abb. 21: Chromatogramm Polysulfidlösung, 1 : 100 verdünnt, Methode IPC1, Säule RP18 250x4.

Zur Identifizierung und Unterscheidung von Polysulfiden wurde eine wässrige Ammoniumpolysulfid-Lösung injiziert. In der frischen Lösung sind neben Sulfid, Spuren von Sulfit und Thiosulfat einige Signale zu beobachten, die nicht mit den Retentionszeiten der Polythionate zusammenfallen. Eine abwechselnde Injektion von Polythionaten und Polysulfiden konnte dies belegen. Die Peaks können somit eventuell Polysulfiden verschiedener Kettenlänge zugeordnet werden. Polythionate wurden bisher noch nicht bei der Oxidation von Polysulfiden beschrieben. Ein Gleichgewicht der Polysulfide untereinander könnte die z. T. nicht völlig symmetrischen Peaks erklären. Nach 3 Tagen konnten die oxidationsanfälligen Ionen Sulfit und Sulfid nicht mehr detektiert werden.



Die Injektion einzelner Polythionate wurde zur Bestätigung der Retentionszeiten und der Kapazitätsfaktoren herangezogen. Des Weiteren wurde bei der Photolyse und der Sulfitolyse von Tetrathionat die Entstehung von höheren und niederen Polythionaten beobachtet. Im abgebildeten Chromatogramm wird deutlich, dass Hexathionat dicht am Systempeak liegt, teilweise konnte keine Auflösung mehr erreicht werden.

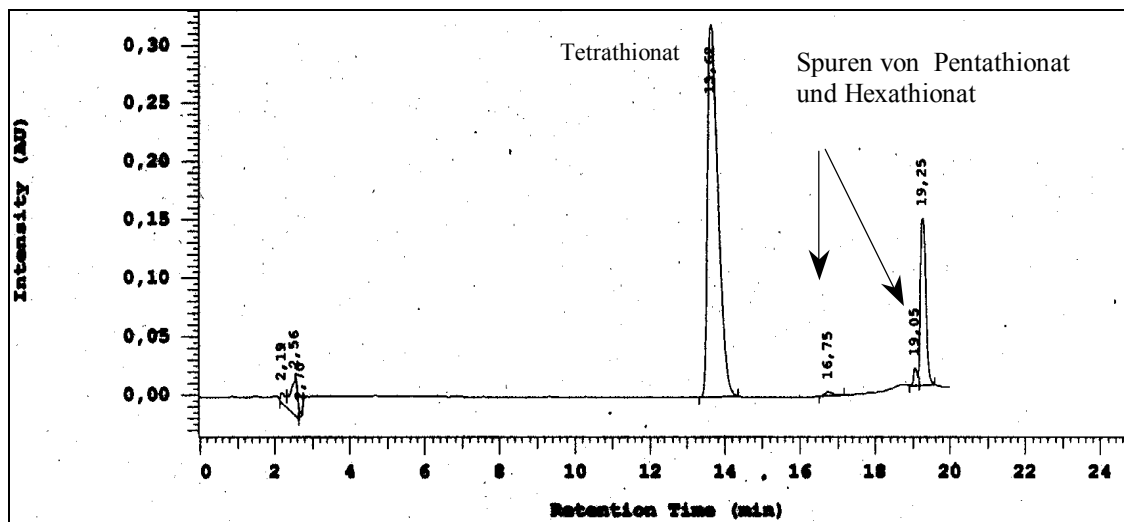


Abb. 22: Chromatogramm Injektion von 100 µg/mL Tetrathionat (Systempeak 19,21 min) Methode IPC 1, Säule RP18 250x4.

Da auch auf das Vorkommen höherer Polythionate geprüft werden sollte, wurde für die Trennung der möglicherweise vorkommenden höheren Polythionate ein linearer Acetonitrilgradient eingesetzt. Es sollte ebenfalls untersucht werden, ob eine Veränderung in der Selektivität von Polythionaten und Polysulfiden erfolgt. Der Acetonitril-Gehalt wurde ab 10 min linear innerhalb von 30 min von 30 % (v/v) auf 100 % erhöht. Ab 40 min wurde mit 100 % Acetonitril eluiert. Wurde der Lauf vorzeitig abgebrochen, wurde die Säule mit Fließmittel konditioniert. Zunächst wurde auch hier das Retentionsverhalten aller relevanten Ionen geprüft.

Die Abbildung 24 zeigt ein Chromatogramm von Thiosulfat und Polythionaten mit 4 bis 6 Schwefelatomen, welches unter den veränderten Gradientenbedingungen erhalten wurde. Es konnte eine gute Trennung mit symmetrischen Peaks erreicht werden, die Kapazitätsfaktoren sind deutlich von Null verschieden ( $t_m = 2,5$  min). Die Retentionszeiten fallen im Vergleich zur Methode IPC 1 im Bereich von Retentionszeiten mit  $t_m > 10$  min kürzer aus, da der Acetonitril-Gehalt innerhalb von

10 bis 20 min von 30 % (v/v) auf etwa 53 % (v/v) erhöht wird [vgl. IPC1 isokratische Arbeitsweise von 30 min bis 25 min 30/70 v/v)].

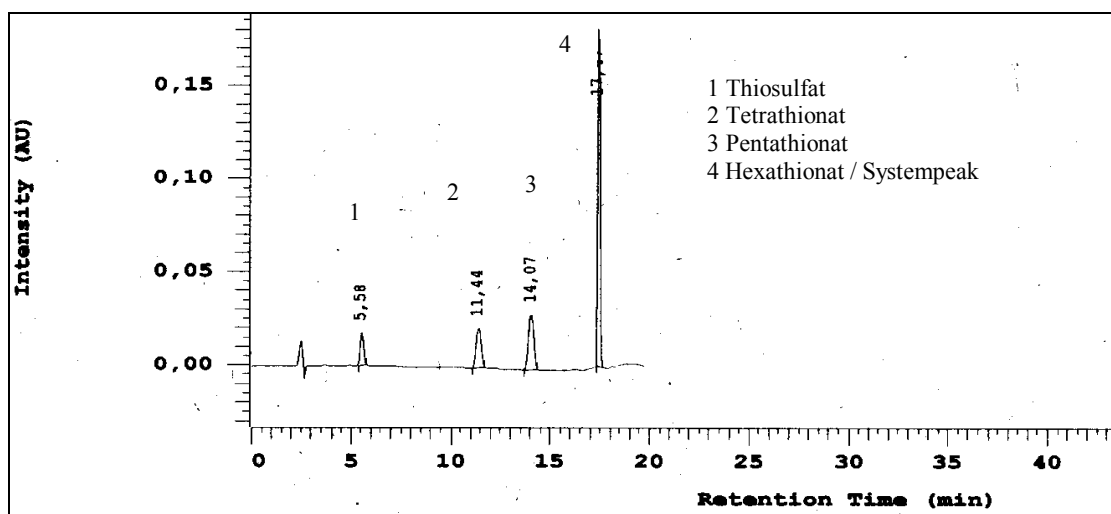


Abb. 23: Chromatogramm Trennung von je 5 µg/mL Thiosulfat, Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat, Methode IPC2, Säule RP18 5 µm 250x4.

Unter diesen Bedingungen wurde ebenfalls in allen Chromatogrammen ein scharfer Systempeak bei etwa 17,5 min erhalten, der bezüglich der Retentionszeit und der Peakhöhe reproduzierbar bei Injektionen von Fließmittel, Reinstwasser und Natriumthiosulfat-Injektionslösungen auftritt. Dieser Peak wurde bereits bei Anwendung der Methode IPC1 beobachtet. Als Ursache für derartige „Geisterpeaks“ kommen Bestandteile des Fließmittels in Betracht. Hexathionat weist bezogen auf den Systempeak nur einen geringen Selektivitätsfaktor auf, so dass eine Bestimmung erschwert oder gar unmöglich ist. Bei Dotierung mit Hexathionat vergrößern sich die Peakfläche und Peakhöhe im Vergleich zum Blindwert. Bei der Injektion von Wasser oder Thiosulfat-Lösung bleiben Fläche und Höhe relativ konstant ( $VK_{\text{Peakfläche}} = 5,7 \%$ ;  $VK_{\text{Peakhöhe}} = 6,8 \%$ ;  $n = 7$ ). Durch Zugabe von Sulfit nimmt die Peakfläche ab und die Bildung von Pentathionat und Tetrathionat kann im Chromatogramm beobachtet werden.

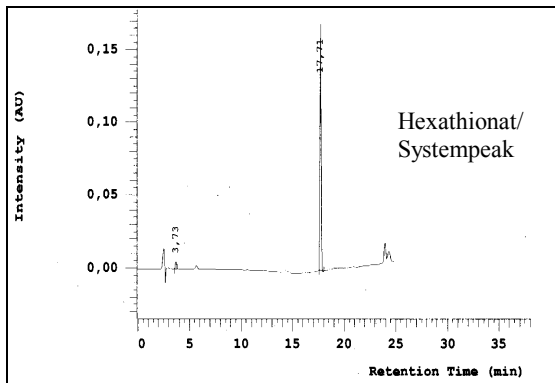


Abb. 24: Chromatogramm 5 µg/mL  
Hexathionat, Methode IPC2, Säule RP18  
5 µm 250x4.

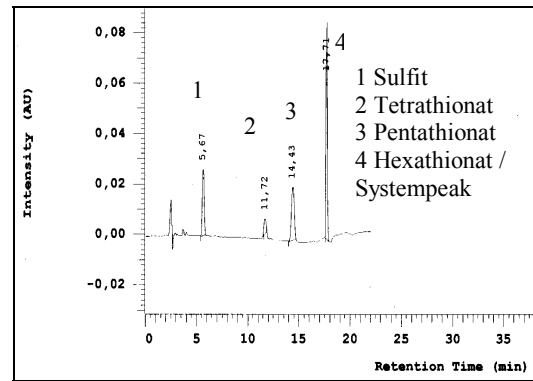


Abb. 25: Chromatogramm je 10 µg/mL  
Hexathionat und Sulfite, Methode IPC2, Säule  
RP18 5 µm 250x4.

Des Weiteren wurde das Retentionsverhalten von Sulfite und Trithionat untersucht. Das Chromatogramm von Sulfite neben Thiosulfat, Trithionat und Tetrathionat, detektiert bei 205 und 215 nm, verdeutlicht, dass Trithionat und Sulfite bei niedrigerer Wellenlänge höhere Absorption aufweisen. Nachteilig erweist sich hier jedoch die Störung in der Basislinie bei 205 nm, so dass für die folgenden Untersuchungen hauptsächlich auf eine Detektionswellenlänge von 215 nm zurückgegriffen wurde. Sulfite und Trithionat konnten unter den gewählten Bedingungen gut von Thiosulfat getrennt werden, wobei sich jedoch im Vergleich zur Trennung der Polythionate  $S_nO_6^{2-}$  mit  $n = 4 - 6$  geringere Selektivitätsfaktoren ergeben. In diesem Konzentrationsbereich der Analyten kann auf Grund der Basislinientrennung von einer guten Auflösung gesprochen werden.

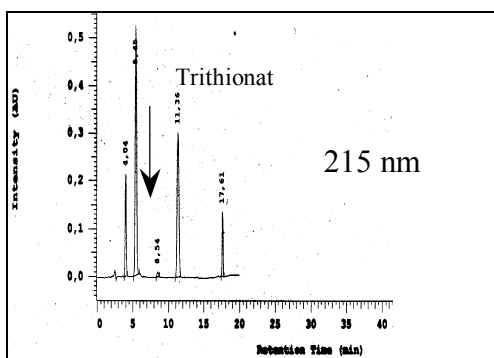


Abb. 26: Chromatogramm Sulfite, Thiosulfat,  
Trithionat und Tetrathionat,  $\lambda = 215$  nm  
(Systempeak  $\approx 17$ min), Methode IPC2, Säule  
RP18 250x4.

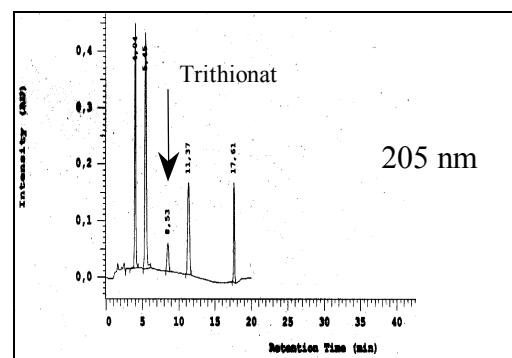


Abb. 27: Chromatogramm Sulfite, Thiosulfat,  
Trithionat und Tetrathionat  $\lambda = 205$  nm  
(Systempeak  $\approx 17$ min), Methode IPC2, Säule  
RP18 250x4.

Zur Bestimmung des Retentionsverhaltens höherer Polythionate wurde ein hydrophiles Schwefelsol, ein so genanntes Raffo Sol, erzeugt. Es lässt sich durch stark azide Zersetzung von Thiosulfat, Präzipitation mit Natriumchlorid und Resuspendierung gewinnen. Die Bildung von höheren Polythionaten in derartigen Sols wurde bereits in der Literatur beschrieben (s. Kap. 2.4.2.3). Im Laufe der Alterung des Sols verschiebt sich durch Abbau der höheren Polythionate das Spektrum in Richtung Polythionate mit niederen Kettenlängen. Es wurde besonders die Zunahme von Tetra-, Penta- und Hexathionat festgestellt, aber auch die Bildung von Thiosulfat und molekularem Schwefel. Trithionat konnte nicht beobachtet werden. Sulfid und Sulfid können in Spuren detektiert werden. Zwischen 18 min und 35 min wurden 40 Peaks detektiert, die den Polythionaten höherer Kettenlänge zugeordnet werden können.

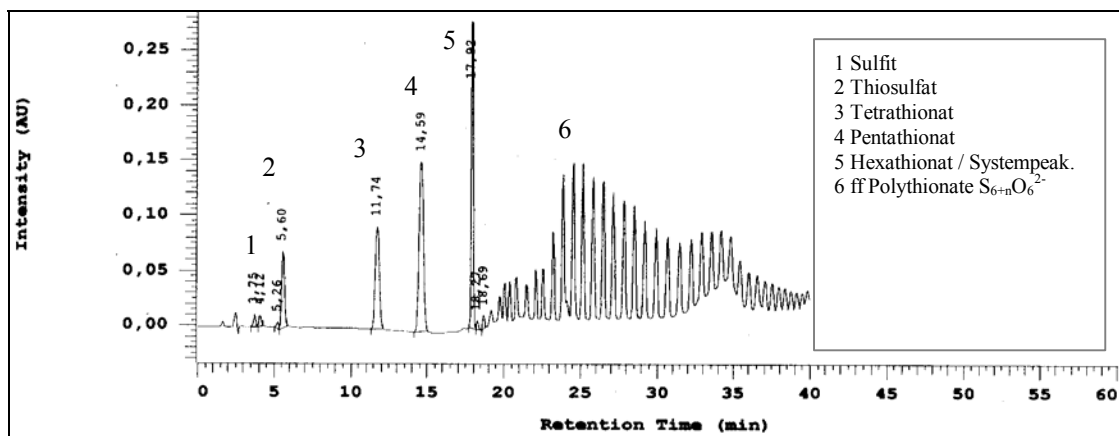


Abb. 28: Chromatogramm Raffo Sol, frisch, IPC2.

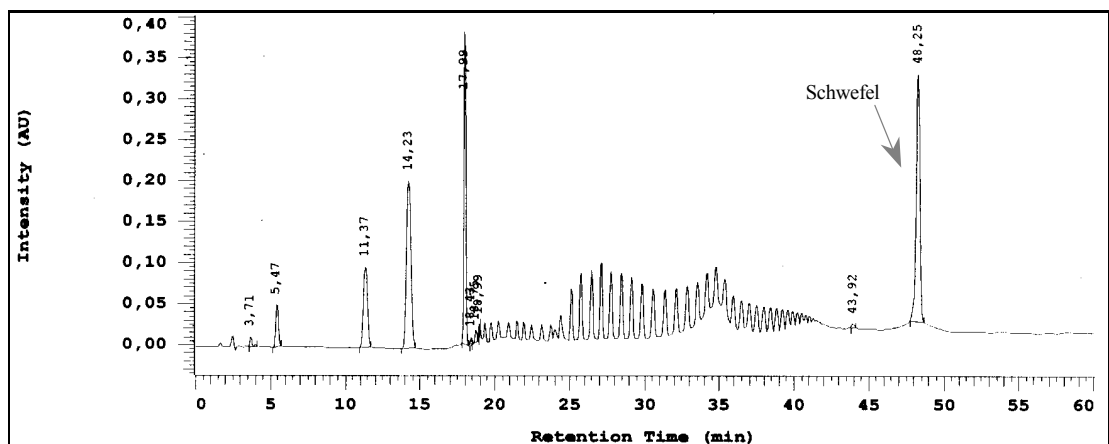


Abb. 29: Chromatogramm Raffo Sol, 3d alt, IPC2 (Peakidentität wie in Abbildung 28).

Neben den genannten Untersuchungen erfolgte eine Bestätigung der so bestimmten Peakidentitäten durch Sulfitolyse verschiedener Polythionate, wobei die Bildung von Thiosulfat und Polythionaten niedriger Kettenlänge beobachtet werden konnte. Weiterhin wurde die Bildung höherer Polythionate bei der Photolyse von Tetrathionat (Bestrahlung mit UV-A Strahlung,  $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) untersucht und konnte bestätigt werden. Polythionate höherer Kettenlänge wurden ebenfalls in einer Wackenroder'schen Lösung gefunden (Einleiten von  $\text{H}_2\text{S}$  in Schweflige Säure). Bei der Injektion von Reinstwasser wurde neben der Totzeit lediglich reproduzierbar der Systempeak bei etwa 17 min detektiert sowie bei längeren Laufzeiten drei sehr kleine Peaks bei 24,2 min, 24,7 min und 36,4 min. Diese Peaks konnten keinen schwefelhaltigen Verbindungen zugeordnet werden.

Tab. 9: Chromatographische Kennzahlen Methode IPC2 untersuchter schwefelhaltiger Spezies.

Ion	$t_R$ in min $V_R$ in mL	$VK_{tR}$ in % (n)	$\alpha$	$k'$	Ss
Sulfid	3,27	1,21 (5)	--	0,308	2,87
Sulfit	3,71	0,44 (4)	1,57	0,484	1,10
Thiosulfat	5,66	0,99 (7)	2,61	1,264	1,00 bis 1,50 *)
Trithionat	8,53	0,24 (3)	1,91	2,412	1,00
Tetrathionat	11,69	1,11 (9)	1,52	3,676	1,00 bis 1,50 *)
Pentathionat	14,38	1,04 (9)	1,29	4,752	1,00 bis 1,40 *)
Hexathionat	17,67	0,77 (10)	1,27	6,068	1,10
<i>Systempeak</i>	<i>17,67</i>	<i>1,45 (7)</i>	<i>0</i>	<i>6,068</i>	<i>1,10</i>
<i>Polythionate <math>S_nO_6^{2-}</math>; <math>n &gt; 6</math></i>	<i>46 Peaks von 18,43 bis 41,49</i>	<i>n.b.</i>	<i>1,05 in der Folge <math>\approx 1,03</math></i>	<i>von 6,372 bis 15,596 (<math>\Delta k \approx 0,2</math>)</i>	<i><math>\approx 1,0</math></i>
<i>Schwefel <math>S_8</math></i>	<i>48,61</i>	<i>0,18 (3)</i>	<i>1,17</i>	<i>18,264</i>	<i>0,67</i>

\*) Tailing tritt mit zunehmender Konzentration auf (bei etwa  $100 \mu\text{g/mL}$ ).

Durch die geänderten chromatographischen Bedingungen haben sich die Retentionszeiten der Polythionate leicht verkürzt. Die schwefelhaltigen Anionen bis einschließlich Hexathionat werden innerhalb von 18 min eluiert. Die Selektivität ist trotzdem in diesem Bereich ausreichend hoch.

Eine Trennung des Hexathionats vom Systempeak konnte jedoch nicht erreicht werden. Die höheren Polythionate und Schwefel eluieren im Bereich von 18 min bis 50 min.

Eine erste Untersuchung mit verschiedenen Tetrathionat-Standardlösungen ergab einen linearen Kalibrierbereich, der sich über drei Zehnerpotenzen erstreckt. Das Bestimmtheitsmaß  $r^2$  lag für den Bereich von 1,78 µg/mL bis 319,5 µg/mL bei 0,9997 und bei 0,9977 für den Bereich von 1,78 µg/mL bis 17,8 µg/mL. Die Residuenplots der Testkalibrierungen ließen keine Abweichung vom linearen Zusammenhang erkennen. Als Wiederfindung wurde für eine Standardlösung (3,55 µg/mL) ein Wert von 91,8 % gefunden.

### 3.2.2.3 Parameter der Bestimmung von Polythionaten

Auf Grund der Ergebnisse der Testkalibrierung mit Tetrathionat und der durchgeführten Vorversuche an Injektionslösungen wurde zur Bestimmung der Polythionate eine Kalibrierung mit verschiedenen konzentrierten Lösungen im unteren ppm-Bereich aller drei Verbindungen vorgenommen. Für Hexathionat wurde der zuvor mehrfach bestimmte Flächenwert des Systempeaks abgezogen.

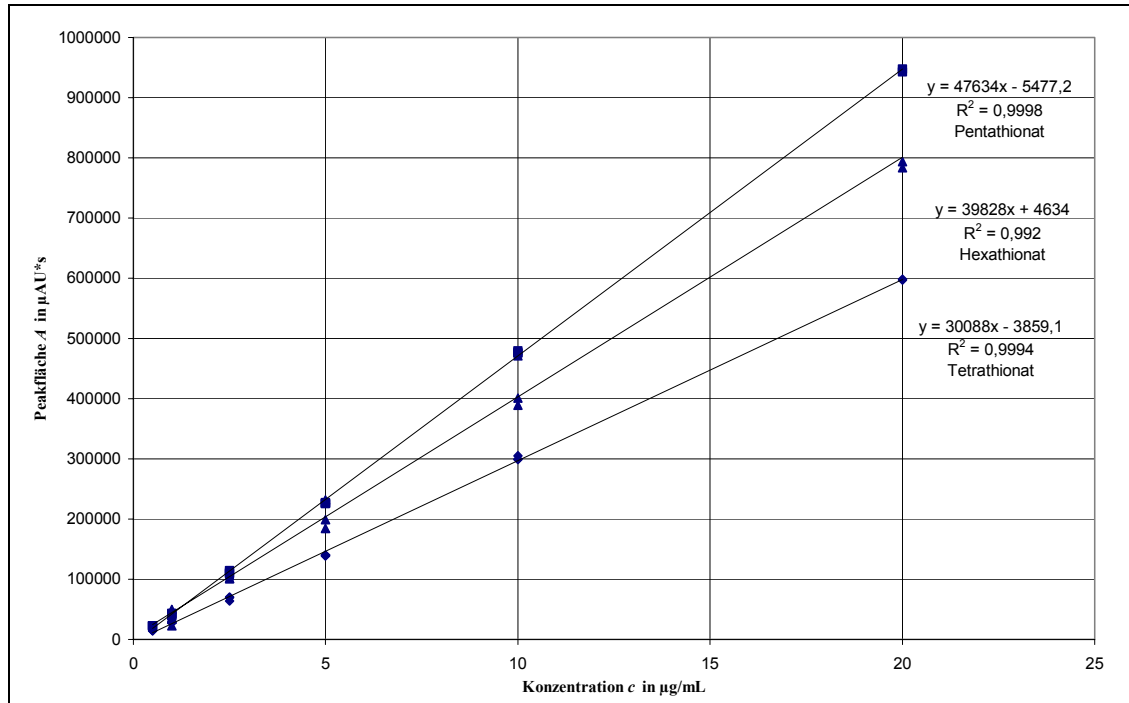


Abb. 30: Kalibrierfunktionen für Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat nach ionenpaarchromatographischer Bestimmung – Methode IPC2.

Die Kalibrierfunktionen für die Polythionate unterscheiden sich hinsichtlich der Empfindlichkeit entsprechend  $b_{\text{Penta}} > b_{\text{Hexa}} > b_{\text{Tetra}}$ . Die Steigungen sind signifikant. Die Korrelationen sind hoch signifikant. Durch die Kalibriergleichung werden über 99 % der Varianz erklärt. Der jeweilige Residuenplot ergab keinen Hinweis auf einen nicht-linearen Zusammenhang. Die Achsenabschnitte für die Bestimmung von Tetrathionat und Pentathionat sind signifikant von Null verschieden ( $VK_{a\text{Tetra}} = 51 \%$  und  $VK_{a\text{Penta}} = 32 \%$ ). Der Achsenabschnitt für die Bestimmung von Hexathionat ist nicht signifikant von Null verschieden ( $VK_{a\text{Hexa}} = 206 \%$ ).

Tab. 10: Grenzwerte der Kalibrierung Tetrathionat.

$\Delta a$	5282,5	$\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
$y_k$	2615,3	$\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
$x_{\text{NG}}$	0,18	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{EG}}$	0,35	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{BG}}$	0,85	$\mu\text{g/mL}$

Tab. 11: Grenzwerte der Kalibrierung Pentathionat.

$\Delta a$	5350,3	$\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
$y_k$	1077,5	$\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
$x_{\text{NG}}$	0,11	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{EG}}$	0,23	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{BG}}$	0,54	$\mu\text{g/mL}$

Tab. 12: Grenzwerte der Kalibrierung Hexathionat.

$\Delta a$	30139,2	$\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
$y_k$	34773,20	$\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
$x_{\text{NG}}$	0,76	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{EG}}$	1,51	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{BG}}$	3,48	$\mu\text{g/mL}$

Die Nachweisgrenze für Tetrathionat liegt bei 180 ng/mL, die Bestimmungsgrenze bei 850 ng/mL ( $f = 18$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 4$ ). Der prozentuale Fehler der Bestimmung beträgt im Mittel 2,8 %. Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt für den unteren ppm-Bereich 2,0 %. Die Verfahrensstandardabweichung beträgt 3,2 %.

Die Nachweisgrenze für Pentathionat liegt bei 110 ng/mL und die Bestimmungsgrenze bei 540 ng/mL ( $f = 18$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 4$ ). Der prozentuale Fehler der Bestimmung beträgt im Mittel 5,8 %. Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt für den unteren ppm-Bereich 1,2 %. Die Verfahrensstandardabweichung beträgt 2,1 %. Die Bestimmungsgrenze für Pentathionat ist um ein Drittel kleiner im Vergleich zum Tetrathionat.

Die Nachweisgrenze für Hexathionat liegt bei 760 ng/mL und die Bestimmungsgrenze bei 3,5 µg/mL ( $f = 12$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 4$ ). Der prozentuale Fehler der Bestimmung beträgt im Mittel 4,9 %. Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt für den unteren ppm-Bereich 7,8 %. Die Verfahrensstandardabweichung beträgt 8,9 %. Sowohl die Bestimmungsgrenze als auch die Präzision liegen für Hexathionat deutlich höher.

Die Fehler der Bestimmungen liegen zwischen 2,8 % und 5,8 % mit absoluten Abweichungen von 0,14 µg/mL bis 0,3 µg/mL Polythionat. Die Standardabweichungen des Gehalts liegen im oberen ppb-Bereich ( $< 0,5$  µg/mL). Die Variationskoeffizienten der Peakfläche liegen für Tetrathionat und Pentathionat zwischen 1 % und 2 %, für Hexathionat bei 5,9 %. Die Reproduzierbarkeit unter Wiederholbedingungen ist vergleichbar.

#### **3.2.2.4 Vermessen von Realproben**

Durch die Untersuchung von verschiedenen Injektionslösungen, unverdünnt und undotiert, konnten bei einigen Zubereitungen Polythionate als Zersetzungsprodukte identifiziert werden. Die Polythionat-Peaks sind auch hier trotz Überladung der Säule deutlich vom breiten Thiosulfat-Peak getrennt. Hexathionat wird unverändert mit dem Systempeak eluiert. Weitere Signale konnten nicht detektiert werden.

Eine Bestimmung der verschiedenen Polythionat-Konzentrationen der Injektionslösungen erfolgte über die Peakflächen unter Verwendung der Kalibrierfunktionen. In den Ampullen konnten vorwiegend Konzentrationen im unteren ppm-Bereich gemessen werden.



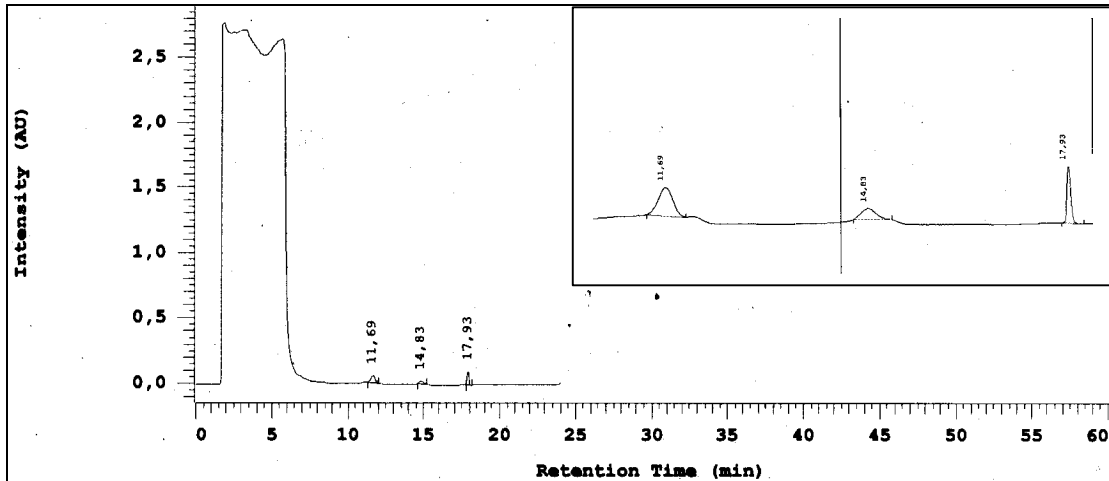


Abb. 31: Chromatogramm. Injektion einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung Charge IIB2 nicht dotiert, unverdünnt, Ausschnittsvergrößerung der Polythionat-Peaks zwischen 10 und 18 min, Methode IPC2.

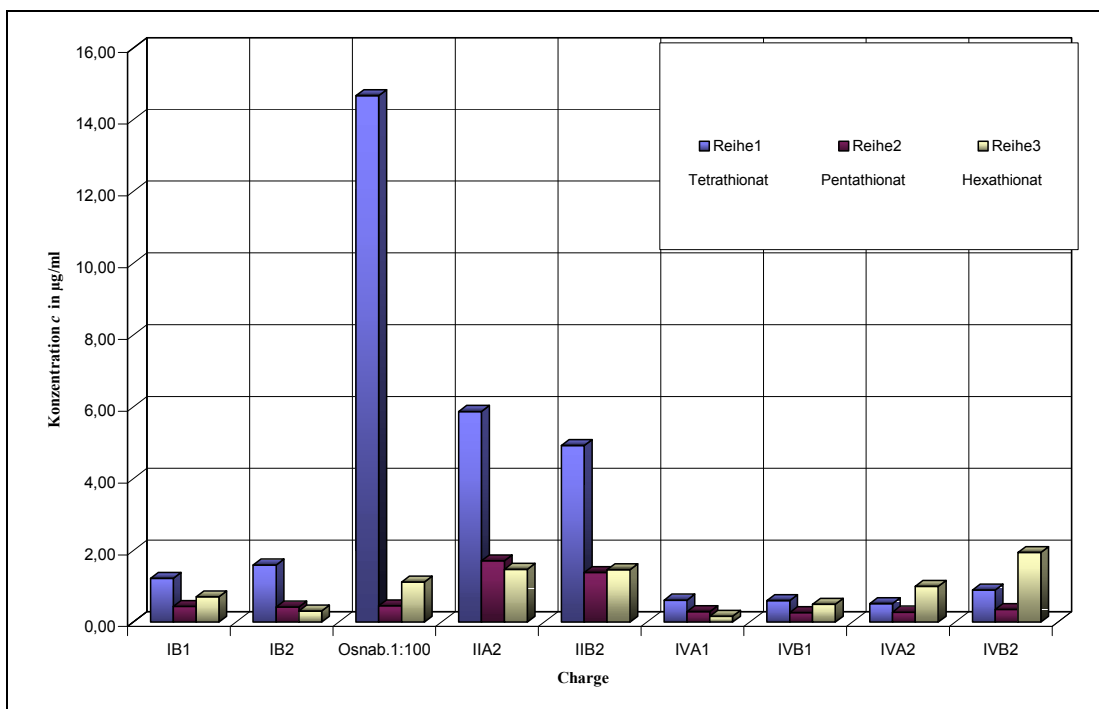


Abb. 32: Konzentration Polythionate in einer Auswahl an Natriumthiosulfat-Injektionslösungen nach Bestimmung mittels Ionenpaarchromatographie.

Die auf einen alkalischen pH-Wert eingestellten Chargen mit ausreichender Pufferkapazität weisen eine geringere Konzentration an Polythionaten im Vergleich zu den weniger stabilisierten Rezepturen auf. Ampullen mit Disulfit-Zusatz, jedoch ungenügender Pufferkapazität, weisen die höchsten Polythionat-Konzentrationen auf.

Zum Vergleich wurde eine deutlich zersetzte 8 Jahre alte 25 %ige Injektionslösung des Bundeswehrkrankenhauses Osnabrück untersucht. Die Lösung wurde dort mit Phosphatpuffer und EDTA stabilisiert und in Polypropylenfläschchen abgefüllt. Die Probe wies bereits deutliche Schwefelabscheidungen auf. Die Polythionat-Konzentrationen liegen hier um das 100 bis 1000fache höher, besonders Tetrathionat fällt, berechnet für die unverdünnte Lösung, mit einer Konzentration über 1 mg/mL auf.

### 3.2.2.5 Methodenentwicklung - Säule RP18 125 x 4 mm

Da die Peakform unter den gewählten Bedingungen der Methode IPC2 relativ flach ausfällt und somit die Peakflächen in dem benötigten Konzentrationsbereich sehr klein sind, wurde überprüft, ob der Einsatz einer kürzeren Säule eine Verbesserung bringt. Es soll auch geprüft werden, ob eine externe Kalibrierung ohne Matrix oder eine Standardaddition zulässig ist.

Das chromatographischen Verhalten der relevanten Ionen wurde im Hinblick auf eine ausreichende Trennung geprüft. Dazu wurden Variationen des Fließmittels, der Flussrate und des Gradienten durchgeführt. Die Übertragung der chromatographischen Bedingungen von Methode IPC2 führte hier zu wesentlich kürzeren Retentionszeiten von Thiosulfat und den Polythionaten. Bei gleichförmigen Konzentrationen im ppm-Bereich sind die Signale vollständig aufgelöst und symmetrisch. Hexathionat konnte hier erstmalig gut vom Systempeak getrennt werden.

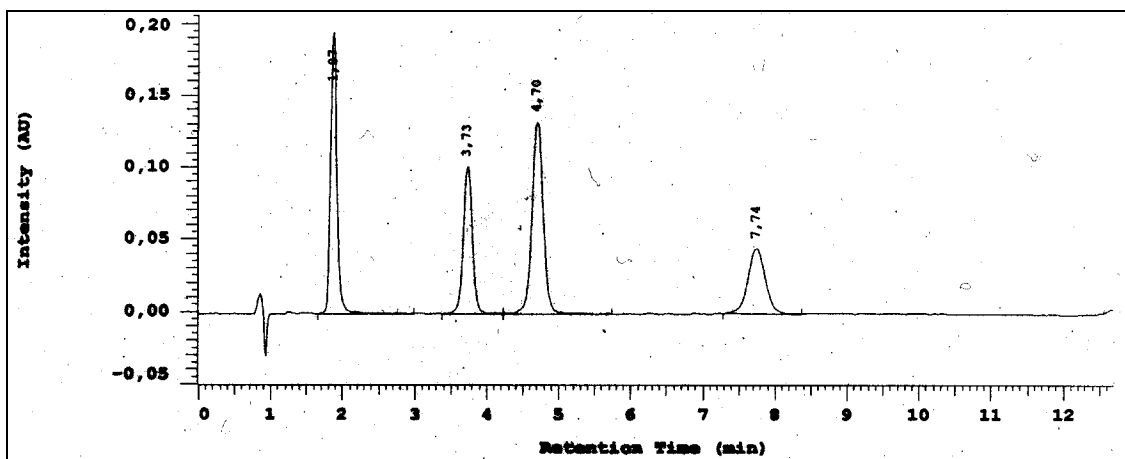


Abb. 33: Beispiel Chromatogramm je 20 µg/mL Thiosulfat, Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat, Methode nur A//C [bis 10' LM A (TBAOH/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2 mmol/L, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 mmol/L, 30 % ACCN) mit 1,5 mL/min; 10'-20' LM A → LM C (ACCN) mit 3 mL/min, ab 20' 100 % LM C 3 mL/min, Säule Lichrosphere125x4.

Bei Injektion einer mit Polythionaten dotierten Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL werden die Peaks der Polythionate auf einem ausgeprägten Tailing des Thiosulfat-Signals detektiert. Sie bilden hier durch Überladung der Säule Doppelpeaks aus. In der Folge wurde versucht, insbesondere über eine Erhöhung der Ionenpaarbildner-Konzentration und durch eine Verringerung des Acetonitril-Anteils im Fließmittel, eine bessere Selektivität und Peakform zu erreichen.

Tab. 13: Auswahl an getesteten Chromatographiebedingungen Säule RP18 125x4 und den resultierenden Retentionszeiten (Mittelwerte), <sup>+) unterstrichen</sup> IPC 3.

Konz. TBAOH in LM A in mmol/L	Konz. ACCN in LM A in % (v/v)	LM- Gradient $t_1/t_2/t_3$ *) in min	Fluss- Gradient $v_1/v_2/v_3$ *) in mL/min	$t_{R-THIO}$ in min	$t_{R-Tetra}$ in min	$t_{R-Penta}$ in min	$t_{R-Hexa}$ in min	$t_{R-System}$ in min
2,0	30	10/40/60	1,0/1,0/2,5	3,3	5,8	7,4	11,5	15,3
2,0	30	10/20/30	1,0/1,0/3,0	3,2	5,2	6,7	11,1	13,1
2,0	30	10/20/30 <sup>**) </sup>	1,5/3,0/3,0	1,1	3,7	4,7	7,7	-
<u>2,5</u> <sup>+) </sup>	<u>25</u>	<u>10/20/30</u>	<u>1,5/1,5/2,5</u>	<u>3,2</u>	<u>7,5</u>	<u>9,0</u>	<u>11,8</u>	<u>13,2</u>
3,33	25	10/20/30	1,5/1,5/2,5	3,5	8,5	10,5	13,2	13,6
3,75	25	7/20/30	1,5/1,5/2,5	3,4	8,7	10,2	11,5	11,6
4,0	25	10/20/30	1,5/1,5/2,5	3,6	9,5	11,0	12,7	13,9
5,0	25	10/20/30	1,5/1,5/2,5	3,7	10,2	11,4	13,8	14,0

\*)  $t_0$  100 % LM A Start;  $t_1$  LM A auf 0 % und LM B auf 100 %;  $t_2$  LM B auf 0 % und LM C auf 100 %;  $t_3$  100 % LM C; Fließmittelzusammensetzung: LM A TBAOH s. Tabelle, 1 mmol/L  $Na_2CO_3$ ,  $H_3PO_4$  wie TBAOH, ACCN s. Tabelle; LM B ACCN/ $H_2O$  30/70 (v/v); LM C) ACCN

\*\*) nur LM A bis 10 min, dann LM A auf 0 % und LM C auf 100 % bis 20 min und dann 100 % LM C

Mit zunehmender Konzentration des Ionenpaarbildners und Verringerung des Acetonitril-Anteils im LM A verlängern sich die Retentionszeiten. Die Signale lösen sich weiter auf, z. B. vergrößert sich der Selektivitätsfaktor für die Trennung Thiosulfat - Tetrathionat von  $\alpha = 2,34$  nach  $\alpha = 2,76$  bei Verdoppelung der TBAOH Konzentration. Offenbar ist durch die höhere Polarisierbarkeit von Tetrathionat eine stärkere Verzögerung möglich. Die Doppelpeaks konnten durch die höhere

Ionenpaarbildner-Konzentration ebenfalls unterdrückt werden. Nachteilig wirkt sich der Effekt in Form einer Verringerung der Selektivität zwischen Hexathionat und dem Systempeak auf das Trennergebnis aus. Besonders bei hochkonzentrierten Injektionslösungen, die mit Polythionaten dotiert wurden, kommt es wieder zu einer Verschmelzung dieser Peaks.

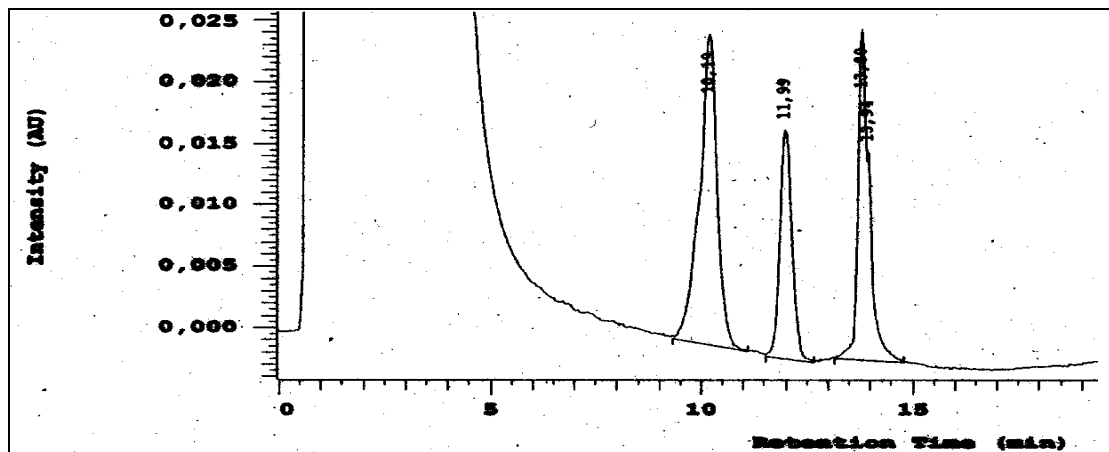


Abb. 34: Chromatogramm mit 5 mmol/L TBAOH in LM A; Charge XB2 10 %ige Natriumthiosulfat-Lösung 1:1 verd., mit je 8 µg/mL Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat dotiert, Säule Lichrosphere 125x4.

Für die weiteren Untersuchungen wurden die Bedingungen von IPC3 verwendet, da sie die beste Trennung ermöglichten (s. Tabelle 13). Die Ionenpaarbildner-Konzentration betrug hier 2,5 mmol/L bei einem Acetonitril-Gehalt von 25 % (v/v) im LM A. Es wurde ein linearer Gradient zur Verringerung der Ionenpaarbildner-Konzentration und zur Erhöhung des Acetonitril-Gehalts eingesetzt. Die Flussrate betrug bis zu einer Laufzeit von 20 min 1,5 mL/min.

Da eine Trennung von verhältnismäßig gleichförmigen Konzentrationen keinen unmittelbaren Rückschluss auf das Trennergebnis bei der Bestimmung von Polythionaten neben einem hohen Thiosulfat-Überschuss erlaubt, wurden auch mit Polythionaten dotierte Natriumthiosulfat-Lösungen 10 g / 100 mL herangezogen. Es sollte ein geeignetes Verdünnungsverhältnis bestimmt werden, welches sowohl ein auswertbares Chromatogramm erzeugt, jedoch nicht die Nachweisgrenze für die zu bestimmenden Ionen unterschreitet. Hier wurde eine Verdünnung von 1 : 1 als ausreichend ermittelt. Die Signale sind auch neben einem Thiosulfat-Überschuss sehr gut aufgelöst. Tetrathionat ist genügend getrennt von der Flanke des tailenden Peaks des Thiosulfat-Überschusses. Hexathionat ist vom Systempeak getrennt. Bei weiterer Verdünnung minimiert sich das Tailing des Thioulfat-Peaks, jedoch besteht hier die Gefahr der Unterschreitung der Nachweisgrenzen der Polythionate.

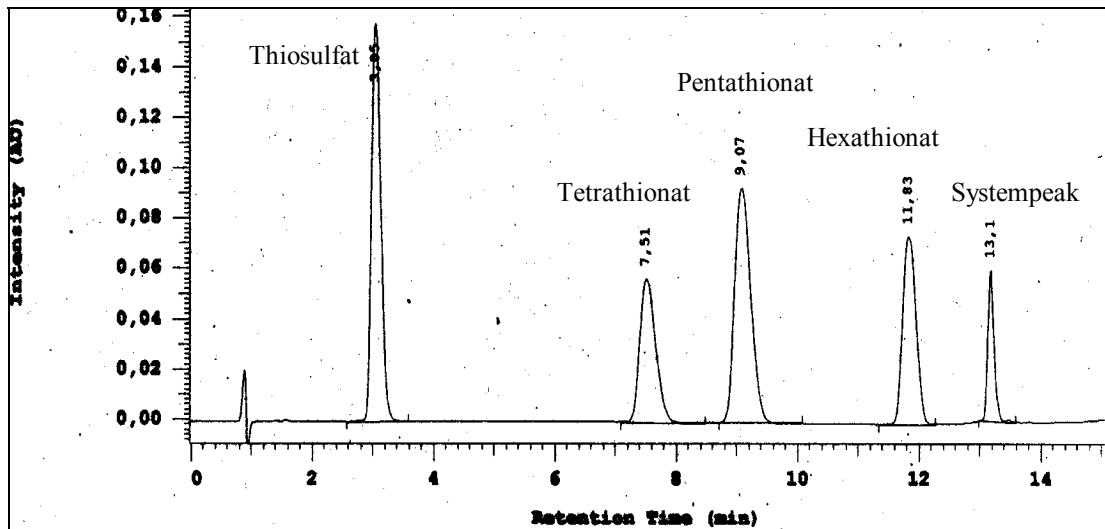


Abb. 35: Chromatogramm je 25 µg/mL Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat und 45 µg/mL Thiosulfat, Methode IPC3, Säule Lichrosphere 125x4.

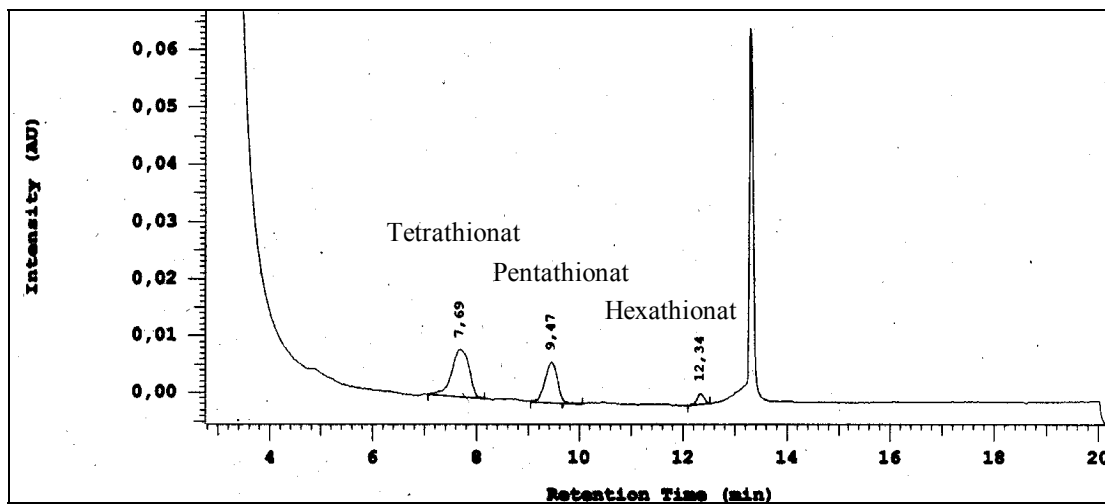


Abb. 36: Chromatogramm Thiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL mit je 10 µg/mL Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat dotiert und anschließend 1 : 4 verdünnt (2,5 g / 100 mL Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, je 2,5 µg/mL Polythionate), Methode IPC3, Säule Lichrosphere 125x4.

Bei höheren Thiosulfat-Konzentration (z. B. Thiosulfat-Lösung 7,5 g / 100 mL mit je 7,5 µg/mL Polythionate dotiert) wurden teilweise wieder Doppelpeaks der Polythionate beobachtet. Bei Zugabe von Polythionat-Konzentrationen im mittleren ppm-Bereich (z. B. 75 µg/mL) zu einer unverdünnten Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL konnte nach kurzer Zeit eine Opaleszenz der Lösung beobachtet werden. Diese ist vermutlich auf eine durch Thiosulfat katalysierte Zersetzung der Polythionate unter einhergehender Schwefelausscheidung zurückzuführen.

### 3.2.2.6 Parameter der Bestimmung

Eine Kalibrierung gelang nur bis zu 1 µg/mL Polythionat. Bei Zugabe von Konzentrationen niedrigeren Konzentrationen im ppb-Bereich verschlechterte sich die Präzision der Peakflächen deutlich. Die mittlere relative Standardabweichung der Peakflächen betrug 0,3 %. Die Korrelationskoeffizienten lagen für Tetrathionat bei 0,9970, für Pentathionat bei 0,9922 und für Hexathionat bei 0,9836. Eine Betrachtung der Residuen erlaubt eine lineare Regression.

Die mittleren Verfahrensstandardabweichungen betragen für Tetrathionat 5,1 %, für Pentathionat 8,2 % und für Hexathionat 7,5 %. Die Bestimmungsgrenzen liegen für Tetrathionat bei 2,3 µg/mL, für Pentathionat bei 3,5 µg/mL und für Hexathionat bei 3,3 µg/mL ( $f = 4$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 4$ ). Bestimmungsgrenzen und Verfahrensstandardabweichungen liegen damit für Tetrathionat und Pentathionat höher im Vergleich zur Methode IPC 2. Für Hexathionat sind sie vergleichbar.

Eine Bestimmung der Polythionate in den Injektionslösungen mit Hilfe einer Standardaddition ist nicht zulässig, da in allen drei Kalibrierungen der Achsenabschnitt signifikant von Null verschieden ist (mit  $VK_a$  24 %, 33 % und 24 %). Eine externe Kalibrierung ohne Matrix (IPC2) wird ebenfalls nicht als sinnvoll erachtet, da die Kalibriergeraden bei einer Kalibrierung in Matrix (IPC3) signifikant abweichen.

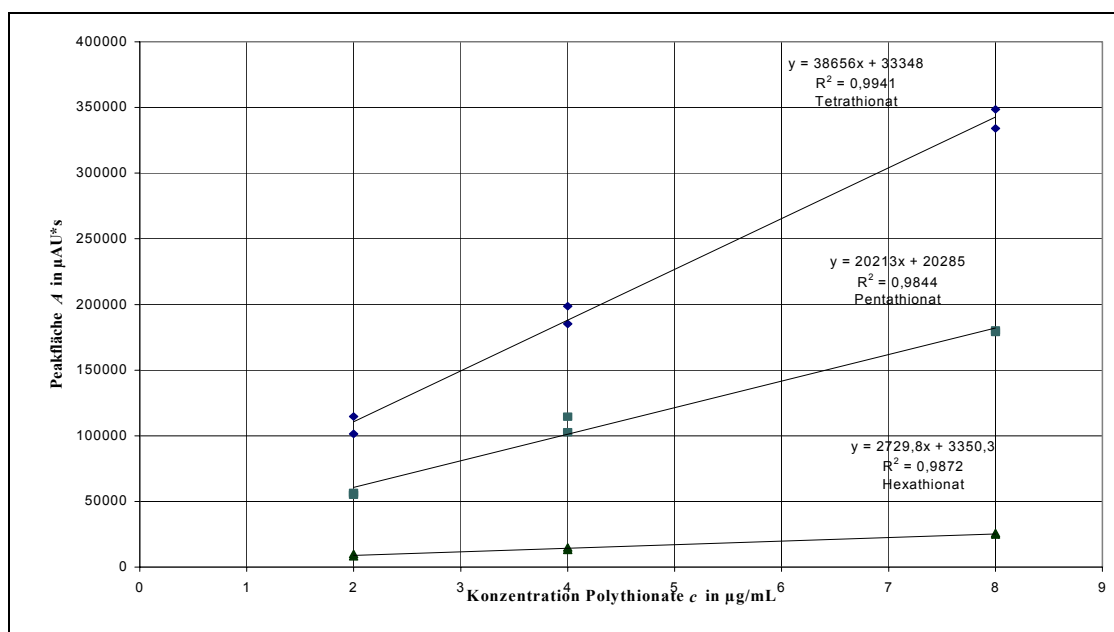


Abb. 37: Bestimmung der Polythionate Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat in Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100mL mit ionenpaarchromatographischer Bestimmung Methode IPC3.

### 3.2.2.7 Methodenentwicklung Säule RPC16Amide 250 x 4 mm

Es soll eine Kalibrierung der Polythionate in Natriumthiosulfat-Matrix durchgeführt werden. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der vorangegangenen Untersuchungen an den OSD- Reversed Phase Säulen wurde zunächst das Retentionsverhalten der Ionen an der RP-Amide Phase untersucht. Als Bedingungen für die Methode IPC4 wurden die Konzentrationen der Fließmittel, die Wahl des Gradienten und der Flussrate identisch den entsprechenden Parametern der Methode IPC3 gewählt. Die Säule hat einen Durchmesser von 4 mm und eine Länge von 250 mm. Sie besitzt neben den hydrophoben Eigenschaften einer RP-Phase auch partiell hydrophile Eigenschaften durch die Amidgruppen. Entsprechend ist ein gegenüber RP-18-Phasen verändertes Retentionsverhalten der Ionen möglich.

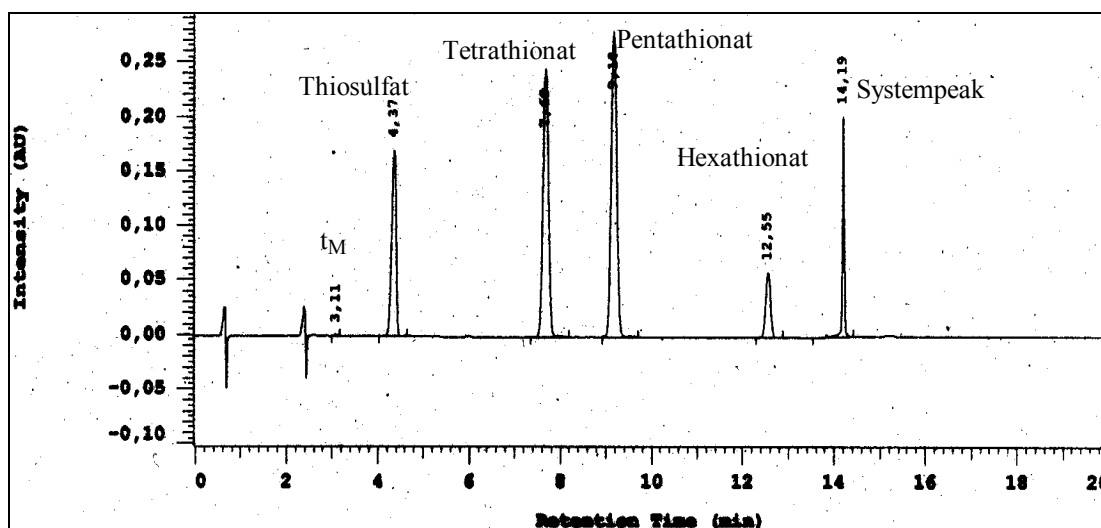


Abb. 38: Chromatogramm und 45 µg/mL Thiosulfat und je 25 µg/mL Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat, Methode IPC4, Säule RPC 16 Amide® Supelco 250x4.

Die Signale von Thiosulfat und der Polythionate sind vollständig aufgelöst. Hexathionat konnte hier im Vergleich zu RP18-Phase deutlich vom Systempeak getrennt werden. Die Trenneigenschaften der RPC16Amide-Phase sind der herkömmlichen RP18-Phase in dieser Hinsicht überlegen. Alle Peaks zeichnen sich durch hohe Symmetrie aus. Erst bei steigenden Konzentrationen oder hohem Thiosulfat-Überschuss zeigt sich ein leichtes Leading oder Tailing. Auch Sulfit, Sulfid und Trithionat sind deutlich getrennt. Die Signale der Polysulfide interferieren ebenfalls nicht mit den zu untersuchenden Polythionat-Peaks.

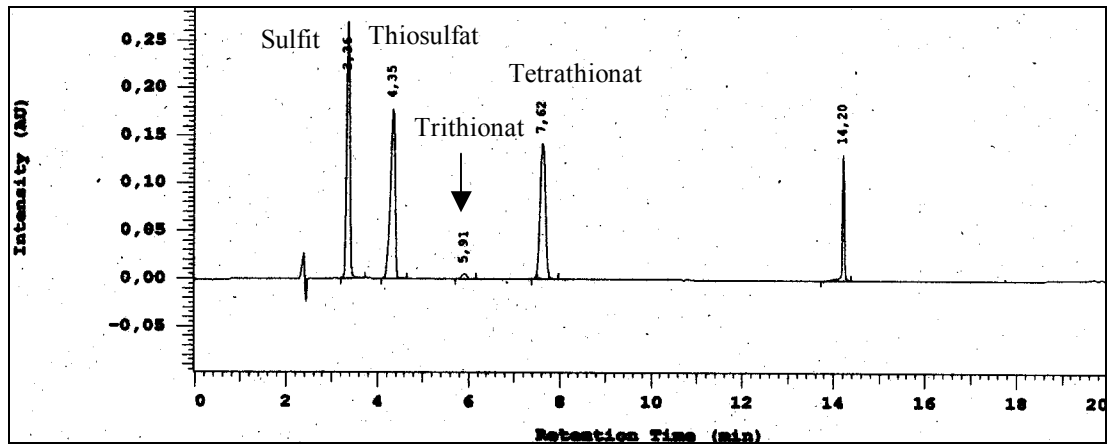


Abb. 39: Chromatogramm 50 µg/mL Sulfit und 100 µg/mL Tetrathionat bilden durch Sulfitolyse Trithionat und Thiosulfat, Methode IPC4, Säule RPC16Amide® Supelco 250x4.

Tab. 14: Chromatographische Kennzahlen Methode IPC4 untersuchter schwefelhaltiger Spezies.

Ion	$t_R$ in min	$V_{tR}$ in mL	$VK_{tR}$ in % (n = 3)	$\alpha$	$k'$	$S_s$
Sulfid	2,84	4,27	2,54	-	0,298	1,1
Sulfit	3,03	4,55	2,64	1,29	0,384	0,95 bis 1,1
Thiosulfat	4,30	6,46	2,29	2,52	0,965	1,0
Trithionat	5,60	8,40	2,27	1,61	1,556	1,0 bis 1,1
Tetrathionat	7,47	11,21	2,55	1,55	2,411	1,0 bis 1,2
Pentathionat	9,02	13,53	1,54	1,29	3,119	1,0 bis 1,2
Hexathionat	12,42	18,63	0,98	1,50	4,670	1,0 bis 1,2
Systempeak	14,16	21,25	0,18	1,17	5,467	0,9 bis 1,0

Die Kapazitätsfaktoren liegen bei der Methode IPC4 im Vergleich zu IPC2 etwas niedriger (Länge der Säulen beide 250 mm, IPC2: RP18 Säule, geringere TBAOH-Konzentration 2 mmol/L, höherer Acetonitril-Anteil in LM A 30 % (v/v); geringere Flussrate 1,0 mL/min). Die Retentionsvolumina für die Polythionate sind trotz höherer Flussrate bei Methode IPC4 geringer, für Sulfit, Sulfid und Thiosulfat etwas höher. Die Selektivitätsfaktoren sind bei den Polythionaten vergleichbar. Sulfit eluiert dichter bei Sulfid, Hexathionat konnte mit einem Selektivitätsfaktor von  $\alpha = 1,17$  vom Systempeak getrennt werden. Somit wird hier die Auswertbarkeit der Chromatogramme erhöht.



Die hier erreichten Retentionszeiten sind ähnlich der Retardierung auf einer 125 mm langen RP18-Säule (s. 3.2.2.5) mit identischen chromatographischen Bedingungen. Demzufolge ist die Retardierung der Polythionate bei ionenpaarchromatographischer Trennung an einer herkömmlichen RP18-Phase größer als an einer RP16Amide-Phase.

Eine Erhöhung auf 3,75 mmol/L TBAOH führte bereits wieder zu einem Einwandern des Hexathionat-Peaks in den Systempeak, so dass hier keine vollständige Auflösung mehr erfolgte. Eine starke Erhöhung der TBAOH-Konzentration auf 7,5 mmol/L resultierte in Basislinienstörungen, die die Auswertung der Chromatogramme stark behindert. Für alle weiteren Untersuchungen wurden die Parameter wie bei IPC4 beschrieben verwendet.

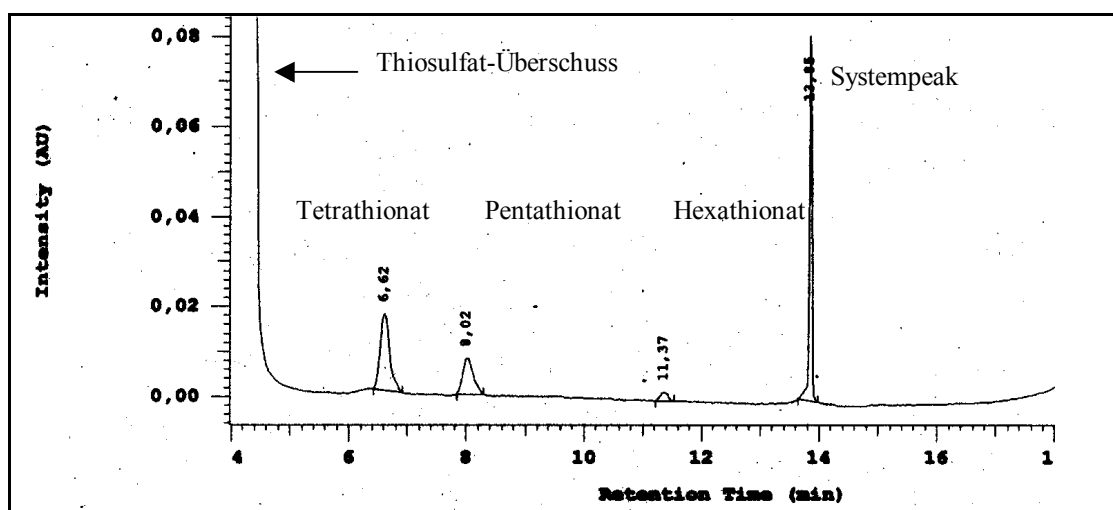


Abb. 40: Chromatogramm Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL, 1:1 verdünnt mit je 2 µg/mL Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat dotiert, Methode IPC4, Säule RPC16Amide® Supelco 250x4.

Um die Trenngüte und Robustheit bei der Injektion von hochkonzentrierten Lösungen zu prüfen, wurden diese mit geringen Polythionat-Konzentrationen dotiert. Für Kalibrierung und Probenmessung wurde wiederholt als Verdünnungsverhältnis 1 : 1 gewählt, da es den Einfluss des Thiosulfats bereits stark verringert, die Nachweisgrenze für die Polythionate jedoch noch nicht unterschritten wird. Es wurde deutlich, dass die Peaks nicht auf dem Tailing-Bereich des durch Thiosulfat-Überschuss stark verbreiterten Peaks aufsitzen. Auch hier ist noch eine gute Peaksymmetrie gegeben. Eine Überprüfung an Realproben ergab ein äquivalentes Trennergebnis.

### 3.2.2.8 Parameter der Bestimmung

Bei den Untersuchungen zur externen Kalibrierung wurde festgestellt, dass die Natriumthiosulfat-Matrix einen Einfluss auf die resultierenden Peakflächen besitzt. Entsprechend wurde für diese Untersuchung eine Kalibrierung in Probenmatrix vorgenommen. Dazu wurde eine Natriumthiosulfat-Lösung 10 g /100 mL hergestellt, entsprechend den künftig zu vermessenden Proben 1 : 1 verdünnt und mit verschiedenen Polythionat-Konzentrationen dotiert. An undotierten Lösungen wurde der Blindwert überprüft.

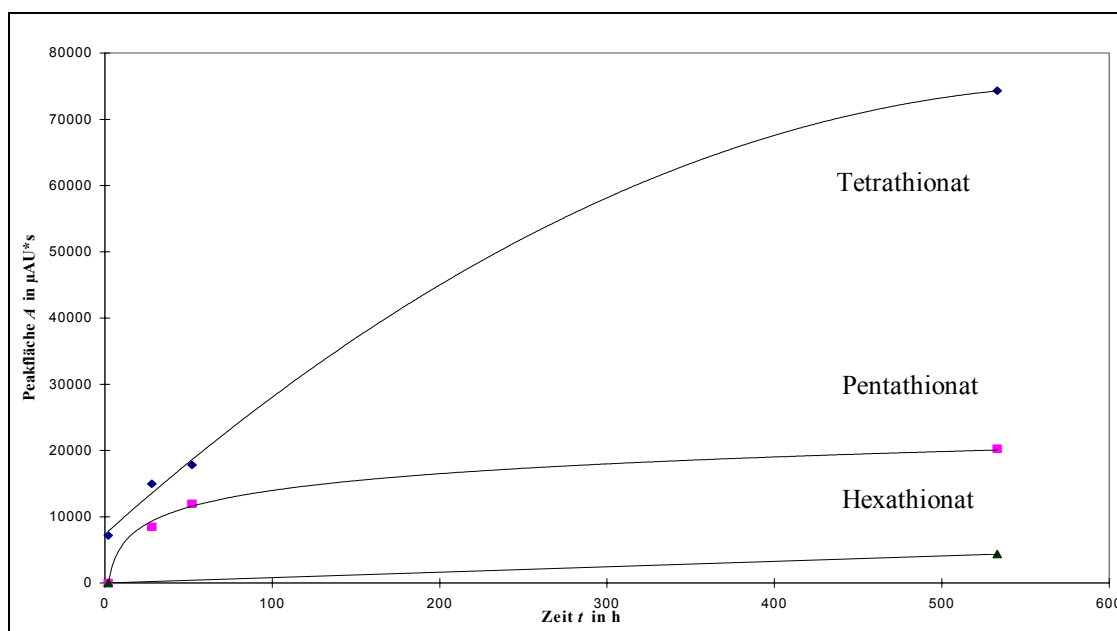


Abb. 41: Bildung von Polythionaten in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Stammlösung.

In einer frischen Natriumthiosulfat-Lösung konnte nur Tetrathionat detektiert werden. Bei Alterung wiesen die Lösungen nach etwa 2 Tagen trotz kühler, vor Licht geschützter Lagerung bei 6 °C Spuren von Tetrathionat und Pentathionat auf. Nach einer Woche konnte auch Hexathionat gefunden werden. Aus diesem Grund wurde die Natriumthiosulfat-Stammlösung wie auch die Polythionat-Stammlösungen immer frisch angesetzt. Der Blindwert für die Ausgangskonzentration an Tetrathionat ( $VK_{\text{Area}} = 3,5 \%$ ) wurde bei der Kalibrierung berücksichtigt, da der Gesamtgehalt in den Ampullen ermittelt werden sollte. Entsprechend der Peakfläche kann die Konzentration auf  $< 100 \text{ ng/mL}$  Tetrathionat in einer Natriumthiosulfat-Lösung 10 g /100 mL geschätzt werden. Es wird deutlich, dass sich ein Gleichgewicht einstellt und die Bildungsrate der Polythionate abnimmt.

Die Kalibrierung wurde in Thiosulfat-Lösung mit Nenn-Konzentration 5 g / 100 mL durchgeführt. Die Polythionate wurden im Bereich von 350 ng/mL bis 8 µg/mL zugegeben. Die Auswertung erfolgte über die Peakflächen. Die Kalibrierfunktionen unterscheiden sich hinsichtlich der Empfindlichkeit entsprechend  $b_{\text{Tetra}} > b_{\text{Penta}} > b_{\text{Hexa}}$ . Die Steigungen sind signifikant. Die Korrelationen sind hoch signifikant. Durch die Kalibrierfunktion von Tetrathionat werden über 99 % der Gesamtstreuung erklärt. Für Pentathionat sind damit 98 % der Gesamtstreuung erklärt. Für Hexathionat sind 95 % der Gesamtstreuung durch den Zusammenhang erklärbar.

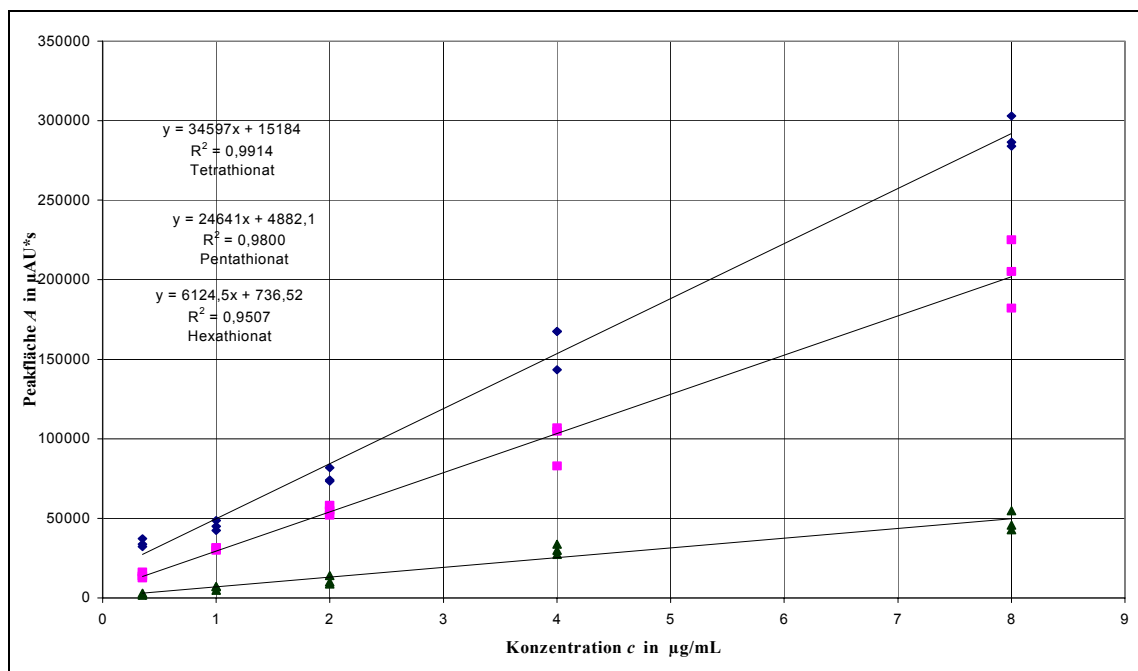


Abb. 42: Kalibrierfunktionen der Polythionate, Methode IPC4 RPC16Amide 250x4, Kalibrierung in Natriumthiosulfat-Matrix.

Bei Überprüfung der Residuenplots ergab sich kein Hinweis auf einen nichtlinearen Zusammenhang. Die Achsenabschnitte für Pentathionat und Hexathionat sind nicht signifikant von Null verschieden ( $VK_{a\text{Penta}} = 82\%$  und  $VK_{a\text{Hexa}} = 22\%$ ). Der Achsenabschnitt für die Kalibrierfunktion von Tetrathionat ist signifikant ( $VK_{a\text{Tetra}} = 24\%$ ).

Die Nachweisgrenze für Tetrathionat liegt bei 340 ng/mL, die Bestimmungsgrenze bei 680 ng/mL ( $f = 13$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Der prozentuale Fehler der Bestimmung beträgt im Mittel 8,5 %. Die Verfahrensstandardabweichung beträgt 8,9 %. Die Nachweisgrenze für Pentathionat liegt bei 520 ng/mL und die Bestimmungsgrenze bei 1,78 µg/mL ( $f = 13$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Der prozentuale Fehler der Bestimmung beträgt im Mittel 6,1 %. Die Verfahrensstandardabweichung beträgt 13,8 %. Die Nachweisgrenze für

Hexathionat liegt bei 950 ng/mL und die Bestimmungsgrenze bei 2,76 µg/mL ( $f = 13$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Der prozentuale Fehler der Bestimmung beträgt im Mittel 21 %. Die Verfahrensstandardabweichung beträgt 22,0 %. Die Standardabweichung des Gehalts betrug für Tetrathionat 0,18 µg/mL, für Pentathionat 0,27 µg/mL und für Hexathionat 0,43 µg/mL. Die Angaben beziehen sich auf die 1:1 verdünnte Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL. Bezogen auf die unverdünnten Injektionslösungen ergeben sich somit Nachweisgrenzen von 0,7 µg/mL für Tetrathionat, 1 µg/mL für Pentathionat und 1,9 µg/mL für Hexathionat.

Tab. 15: Grenzwerte der Kalibrierung Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat in verdünnter Lösung.

Parameter	Tetrathionat	Pentathionat	Hexathionat	Einheit
$\Delta a$	11726	12813	5078	µAU*s
$y_k$	26910	17695	5814	µAU*s
$x_{NG}$	0,34	0,52	0,95	µg/mL
$x_{EG}$	0,68	1,04	1,90	µg/mL
$x_{BG}$	1,18	1,78	2,76	µg/mL

Die Variationskoeffizienten für die Peakflächen lagen sowohl unter Vergleichs- als auch Wiederholbedingungen zwischen 6 % und 8 % für Tetrathionat und Pentathionat, für Hexathionat bei  $\approx 20$  %. Die Streuung ist deutlich höher im Vergleich zu einer Bestimmung ohne Natriumthiosulfat-Matrix. Entsprechend fallen die Bestimmungsgrenzen ebenfalls etwas höher aus.

### 3.2.2.9 Vermessen von Realproben

Die Injektionslösungen wurden entsprechend der durchgeführten Kalibrierung verdünnt, so dass die Natriumthiosulfat-Konzentration 5 g / 100 mL betrug. Für die Angabe der Endkonzentration an Polythionaten erfolgte eine Rückrechnung mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor ( $F = 2$  für 10 %ige Injektionslösungen,  $F = 3$  für 15 %ige Injektionslösungen,  $F = 5$  für 25 %ige Injektionslösungen). Es erfolgte eine Doppelbestimmung an jeweils frisch geöffneten Ampullen.

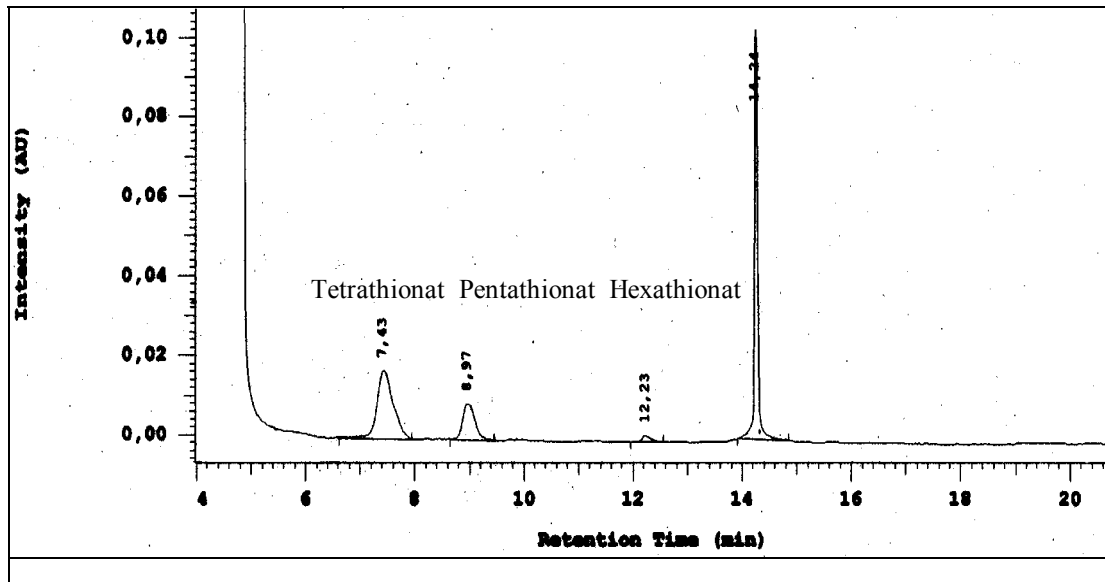


Abb. 43: Chromatogramm Natriumthiosulfat-Injektionslösung 10 %ig, Charge IIA2 1:1 verdünnt, Methode IPC4, Säule RPC16Amide® Supelco 250x4.

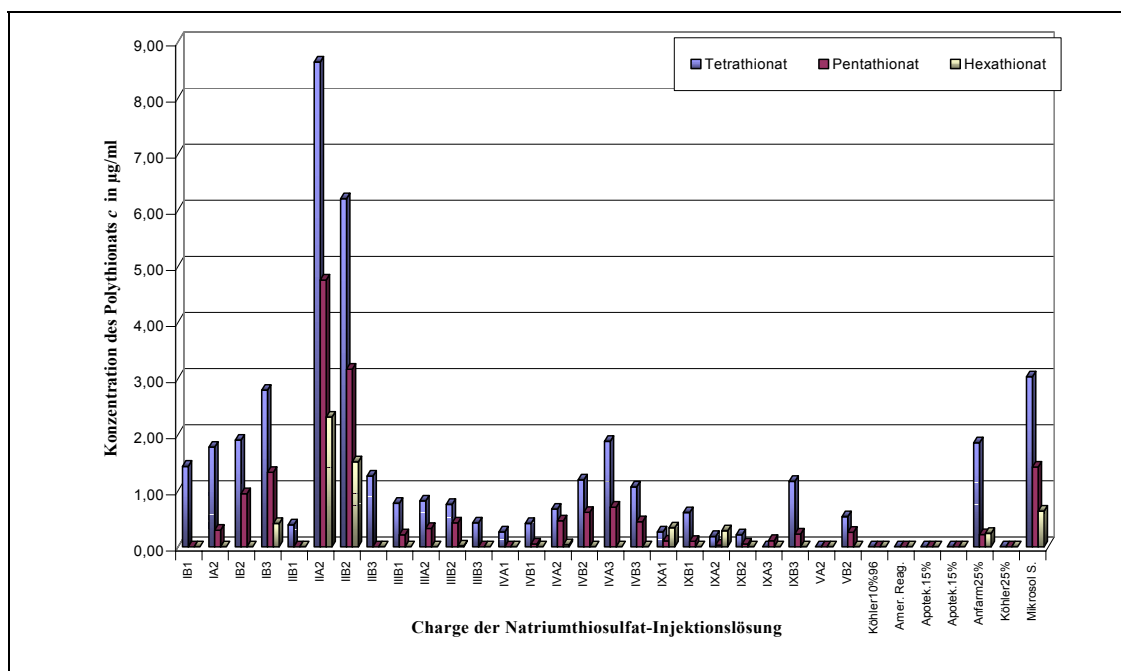


Abb. 44: Konzentration der Polythionate in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen bestimmt mit Methode IPC4, Säule RPC16Amide® Supelco 250x4.

Die Gültigkeit der Kalibrierung wurde zwischen den Analysen durch Injektion von drei Standardlösungen hinsichtlich Steigung und Achsenabschnitt überprüft. Im Vergleich zur Kalibrierung ohne Matrix ergab sich eine höhere Varianz der Peakflächen. Der Systempeak erwies sich sowohl bei Kalibrierlösungen als auch bei Injektionslösungen hinsichtlich Retentionszeit und Peakfläche konstant ( $VK_{tR} = 0,4 \%$ ;  $VK_{Area} = 7,9 \%$ ).

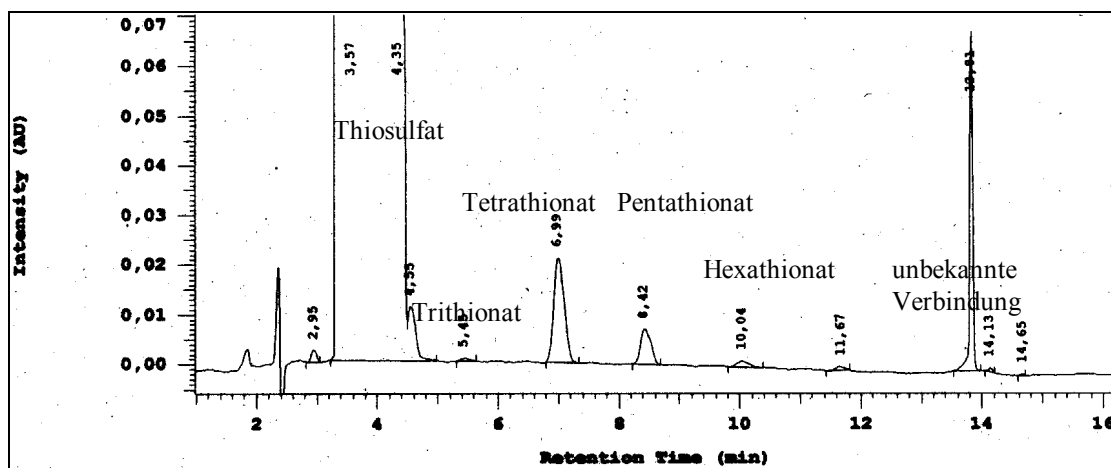


Abb. 45: Chromatogramm Injektion von Microsol Soufré® unverdünnt, Methode IPC4, Säule RPC16Amide® Supelco 250x4.

Bemerkenswert fiel das Spektrum an detektierbaren Verbindungen in der Zubereitung Microsol Soufré® aus. Es handelt sich hierbei nicht um eine Injektionslösung, sondern um eine Natriumthiosulfat-Zubereitung mit 3,87 mg / mL für den Einsatz im HNO Bereich zum Spülen. Es konnte neben Thiosulfat Sulfid, Trithionat, Tetrathionat, Pentathionat, Hexathionat und Spuren höherer Polythionate detektiert werden. Sulfid und Polysulfide konnten nicht eindeutig bestimmt werden. Ein unbekanntes Produkt konnte nicht zugeordnet werden. Das Vorkommen von Polysulfiden mit Kettenlängen, die von der Vergleichslösung abweichen, kann nicht ausgeschlossen werden.

In einem Handelspräparat (25 %ige Natriumthiosulfat-Injektionslösung, Fa. Anfarm, Griechenland) wurde auch Trithionat als Zersetzungsprodukt identifiziert. Für Tetrathionat wurden bei den Handelspräparaten zumeist Peakflächen unterhalb des kritischen Messwertes gefunden, so dass Tetrathionat nicht als nachgewiesen bezeichnet werden kann. Nur im Falle der 25 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung der Fa. Anfarm wurde Tetrathionat mit 1,85 µg/mL oberhalb der Nachweisgrenze gefunden. Pentathionat konnte in den Lösungen nicht nachgewiesen werden (Peakfläche maximal unterhalb des kritischen Messwertes). Hexathionat wurde in keinen kommerziellen Injektionslösungen gefunden. (Im Falle der Lösung von Anfarm wurde ein Peak, jedoch mit einer Fläche kleiner als der kritische Messwert, beobachtet.) Eine direkte Korrelation zwischen der Art der Sterilisation und dem Grad der Zersetzung wurde nicht gefunden.

Bei den Injektionslösungen eigener Herstellung wurde als höchste Tetrathionat-Konzentration 8,64 µg/mL für die Charge IIA2 ermittelt. Es handelt sich um eine sterilfiltrierte Charge, die nach 12 monatiger Lagerzeit vermessen wurde. Die entsprechende sterilisierte Charge wies eine etwas niedrigere Konzentration mit 6,20 µg/mL auf. Dieser Wert stellt das Maximum für die sterilisierte Lösung über den Beobachtungszeitraum dar. Nach weiteren 16 Monaten werden nur noch geringe Tetrathionat-Konzentrationen gemessen. Das gilt auch für Pentathionat und Hexathionat. Auch hier werden bei der Charge IIA2 gefolgt von Charge IIB2 die höchsten Werte gemessen. Die Pentathionat-Konzentrationen betragen 4,75 µg/mL und 3,17 µg/mL. Die Hexathionat-Konzentrationen sind für die sterilfiltrierte Charge nicht bestimmbar, sie liegt jedoch bei einem Wert  $\geq 1,90$  µg/mL ( $x_{NG}$ ). Die Konzentration in der sterilisierten Charge liegt unterhalb der Erfassungsgrenze, wurde jedoch nachgewiesen.

Tetrathionat konnte noch in allen Chargen der Rezeptur I und in IVB2, IVA3 bestimmt werden, hier ist eine kontinuierliche Abnahme über die Lagerungszeit zu beobachten. In einigen Ampullen der Rezeptur III, IV und IX lag die Konzentration, z. T. auch noch nach 28 monatiger Lagerung, bei mindestens  $\geq 0,68$  µg/mL ( $x_{NG}$ ). In einigen Ampullen lag die Konzentration noch oberhalb der Nachweisgrenze. Auch Pentathionat konnte in der Ampulle IB3 nachgewiesen werden, wobei die Konzentration nach 4 monatiger Lagerungszeit in der sterilisierten Charge mindestens  $\geq 1,04$  µg/mL ( $x_{NG}$ ) betrug. Pentathionat konnte außer in den bereits aufgeführten Chargen nur noch in IA2, IVB2, IVA3, nachgewiesen werden. Hexathionat konnte außer in den bereits erwähnten Chargen nicht nachgewiesen werden.

Im Natriumthiosulfat, welches zur Herstellung der Injektionslösungen verwendet wurde, ist bereits Tetrathionat als Verunreinigung enthalten. Dies konnte an Hand eines Peaks im Chromatogramm identifiziert werden. Die Konzentration liegt jedoch unterhalb der Nachweisgrenze der durchgeführten Kalibrierung. An Hand der Chromatogramme der vermessenen Injektionslösungen lässt sich zusammenfassend feststellen, dass in einigen Ampullen die Konzentration an Tetrathionat zugenommen hat, dass in einigen Lösungen die Bildung weiterer höherer Polythionate erfolgte, dass bei Lagerung der Ampullen teilweise eine Maximalkonzentration durchlaufen wurde und in der Folge ein Abbau der Polythionate stattfindet und dass in einigen Lösungen das ursprünglich vorhandene Tetrathionat abgebaut wurde. Die geringste Zersetzung wurde wiederholt in den Ampullen mit alkalischem pH-Wert und hoher Pufferkapazität beobachtet.

### 3.2.3 Ionenpaarchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion

#### 3.2.3.1 Methodenentwicklung und Parameter der Thiosulfatbestimmung

Auf Grund der ionischen Natur der zu bestimmenden Ionen wurde in diesem Ansatz versucht, eine ionenpaarchromatographische Bestimmung mit der Leitfähigkeitsdetektion zu kombinieren. Eine Gradientenelution erwies sich als nicht sinnvoll, da eine Basisliniendrift durch die sinkende Leitfähigkeit bei Reduktion der ionischen Bestandteile verursacht wurde. Eine simultane Bestimmung der Polythionate wurde durch die unter diesen Bedingungen resultierenden hohen Retentionszeiten und breiten Signale ausgeschlossen, da für die Trennung von Sulfit, Sulfat und Thiosulfat schwächere Elutionsmittel nötig sind. Tetrathionat eluiert je nach chromatographischen Bedingungen bei Retentionszeiten um 40 min, höhere Polythionate noch später. Als stationäre Phase wurde ein RP18 ODS endcapped Material gewählt. Es wurden Säulen von 125 mm und 250 mm Länge auf ihre Eignung getestet. Es wurde ein Tetrabutylammoniumhydroxid / Acetonitril Eluent eingesetzt. Der pH-Wert wurde mit Phosphorsäure auf einen Bereich von 7,2 eingestellt.

Unter Verwendung der 250 mm RP18 Säule und eines Fließmittels mit 2,46 mmol/L TBAOH, 2,1 mmol/L  $\text{H}_3\text{PO}_4$  und 10 % Acetonitril (v/v) bei einer Flussrate von 1,5 mL/min und 50 °C sind Sulfit, Sulfat und Thiosulfat bei äquivalenten Konzentrationen relativ gut getrennt ( $k'_{\text{Sulfit}} = 19,00$ ;  $k'_{\text{Sulfat}} = 20,35$ ;  $\alpha_{\text{Sulfat/Sulfit}} = 1,07$ ;  $k'_{\text{Thiosulfat}} = 22,27$ ;  $\alpha_{\text{Thiosulfat/Sulfat}} = 1,09$ ). Bei stark unterschiedlichen Konzentrationen wird durch verschlechterte Auflösung und Basislinienstörungen eine Auswertung des Chromatogramms der niedrig konzentrierten Komponente unmöglich. Eine Erhöhung des Acetonitril-Gehalts auf 14,5 % (v/v) verschlechtert bei insgesamt kürzeren Retentionszeiten die Auflösung ( $\alpha_{\text{Thiosulfat/Sulfat}} = 1,03$ ).

Eine weitere Erhöhung des Acetonitril-Gehalts auf 25 % (v/v) führt neben einer Verschlechterung der Auflösung ( $\alpha_{\text{Thiosulfat/Sulfat}} = 1,02$ ) zu einer Verschlechterung der Peaksymmetrie mit starkem Tailing. Auch eine Variation der Temperatur erbrachte keine Verbesserung. Bei Verringerung des Acetonitril-Gehalts verschlechterte sich die Auflösung von Sulfit und Sulfat. Unter Einsatz der erstgenannten Trennbedingungen (2,46 mmol/L TBAOH, 2,1 mmol/L  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 10 % Acetonitril (v/v), 1,5 mL/min, 50 °C) wurde eine Kalibrierung von Thiosulfat durchgeführt. Der getestete lineare Bereich



erstreckt sich von 50 µg/mL bis zu 150 µg/mL, vorgesehen für eine Verdünnung von 1:500 einer 10 %igen Injektionslösung auf etwa 90 µg/mL Thiosulfat (Schwerpunkt der Kalibrierung). Der Zusammenhang lässt sich mit einer linearen Gleichung beschreiben. Die Steigung und der Achsenabschnitt sind signifikant. Die relative Verfahrensstandardabweichung beträgt 2,7 %. Es wurde teilweise Schwankungen der Retentionszeiten und der Auflösung unter Wiederholbedingungen beobachtet. Da auch die Retentionszeiten relativ lang sind, wurde in weiteren Versuchen eine Säule von 125 mm Länge eingesetzt.

Zunächst wurden das Fließmittel der ionenpaarchromatographischen Bestimmung der Polythionate auf das System übertragen (s. Methode IPC4). Bei 2,0 mmol/L TBAOH, 2,0 mmol/L H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 1,0 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 30 % Acetonitril (v/v), einer Flussrate von 1 mL/min und einer Temperatur von 30 °C wurde deutlich, dass die relevanten Ionen nicht getrennt wurden. Bei einer verminderten Flussrate von 0,5 mL/min wurden sie ebenfalls nicht basisliniengetrennt. Die Peaks fallen dicht mit einem Systempeak zusammen ( $\alpha_{\text{Thiosulfat/Sulfat}} = 1,06$ ;  $\alpha_{\text{Systempeak/Thiosulfat}} = 1,07$ ).

Die Trennbedingungen wurden modifiziert, um eine genügende Auflösung zu erreichen. Bei Verringerung der Anteile an Ionenpaarbildner, organischem und anorganischem Modifikator (1,0 mmol/L TBAOH, 1,0 mmol/L H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 15 % Acetonitril (v/v), Flussrate 1 mL/min) wurde eine zufrieden stellende Auflösung erreicht ( $\alpha_{\text{Thiosulfat/Sulfat}} = 1,12$ ;  $\alpha_{\text{Systempeak/Thiosulfat}} = 1,75$ ). Sulfit eluiert mit dem Systempeak (Methode IPC-LFD1). Weitere Modifikationen führten zu keiner Verbesserung.

Auffällig sind auch hier die Basislinienveränderungen zwischen Sulfat und Thiosulfat. Bei größer werdenden Konzentrationsverhältnissen von Sulfat und Thiosulfat wird beobachtet, dass eine Bestimmung von Sulfat neben einem Überschuss von Thiosulfat zunehmend erschwert und schließlich unmöglich wird. Dies wird durch die Vergrößerung der Peakbasis von Thiosulfat bei gleichzeitiger Verringerung des Sulfat-Peaks und die Verstärkung des Basislinienabfalls zwischen den Peaks verursacht.

Eine Bestimmung von Sulfat ist erst bei Konzentrationen oberhalb von 250 µg/mL in 10 %iger Injektionslösung und bei einer Verdünnung von 1 : 500 möglich. Niedrigere Konzentrationen, wie sie bei der Zersetzung jedoch beobachtet werden, sind mit dieser Methode nicht quantifizierbar.

Die Bestimmung von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze ist für diese Gehaltsbestimmung nicht notwendig. Die Bestimmung erfolgte deutlich oberhalb des kritischen Messwertes.

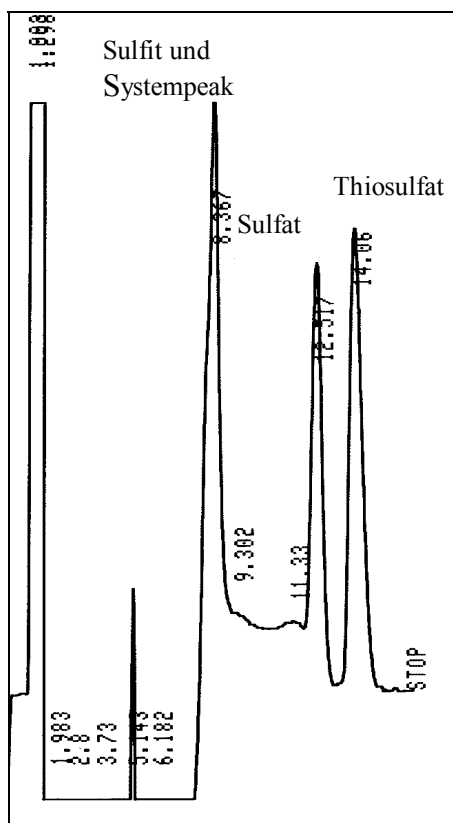


Abb. 46: Chromatogramm Sulfit (eluiert mit Systempeak), Sulfat und Thiosulfat, Methode IPC-LFD1, Säule RP18 Lichrochart® 125x4 endcapped.

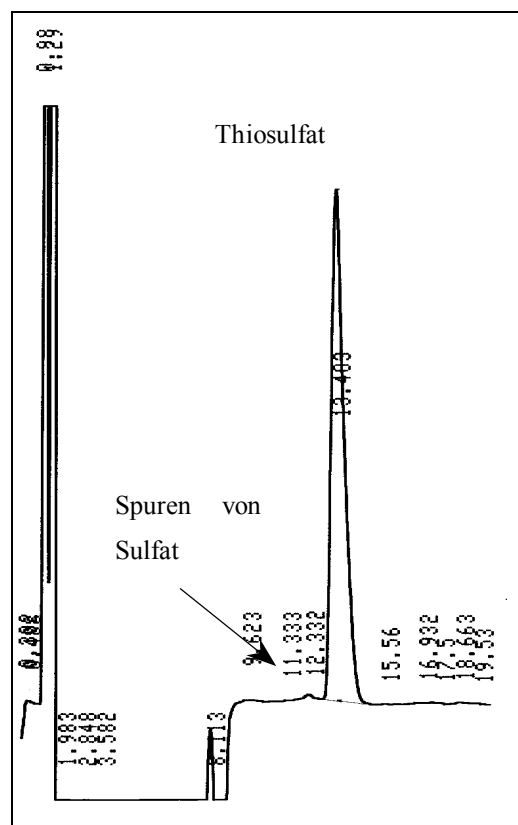


Abb. 47: Chromatogramm Natriumthiosulfat-Injektionslösung 10 %ig, Charge IVA1, 1:1000 verdünnt, Methode IPC-LFD1, Säule RP18 Lichrochart® 125x4 endcapped.

Für die Kalibrierung wurde eine Verdünnungsreihe von sieben Natriumthiosulfat-Lösungen, berechnet als Thiosulfat, im Bereich von 20 µg/mL bis 90 µg/mL dreifach vermessen. Dieser Bereich liegt innerhalb des zuvor bestimmten linearen Bereichs. Die Erwartungswerte der Thiosulfat-Konzentrationen ( $c_{\text{Thio}} \approx 45 - 55 \text{ µg/mL}$ ) bei entsprechender Verdünnung der Injektionslösungen liegen in der Nähe des Schwerpunkts der Kalibrierung.

Ein Residuenplot ergab keinen Hinweis auf einen nichtlinearen Zusammenhang. Die Steigung der Kalibriergeraden ist hoch signifikant, der Achsenabschnitt ist ebenfalls signifikant. Durch das Modell werden über 99,6 % der Gesamtstreuung erklärt. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,9985. Als obere Grenze für den linearen Bereich wurde 110 µg/mL bestimmt. Oberhalb dieser Konzentration flacht die Kalibriergerade ab. Die relative Verfahrensstandardabweichung beträgt 2,2 %.

Die Überprüfung der Richtigkeit, auch unter Wiederholbedingungen, ergab Abweichungen von maximal 9 %, im Mittel betrugen sie 4 %. Die Standardabweichung des Gehalts beträgt um den Schwerpunkt der Kalibrierung (von 40 µg/mL bis 60 µg/mL) im Mittel  $\pm 0,77$  µg/mL, die relative Standardabweichung des Gehalts liegt somit bei 1,6 %. Die Präzision der Peakhöhe entspricht einer relativen Standardabweichung von 4,6 % und unter Wiederholbedingungen 5,9 %.

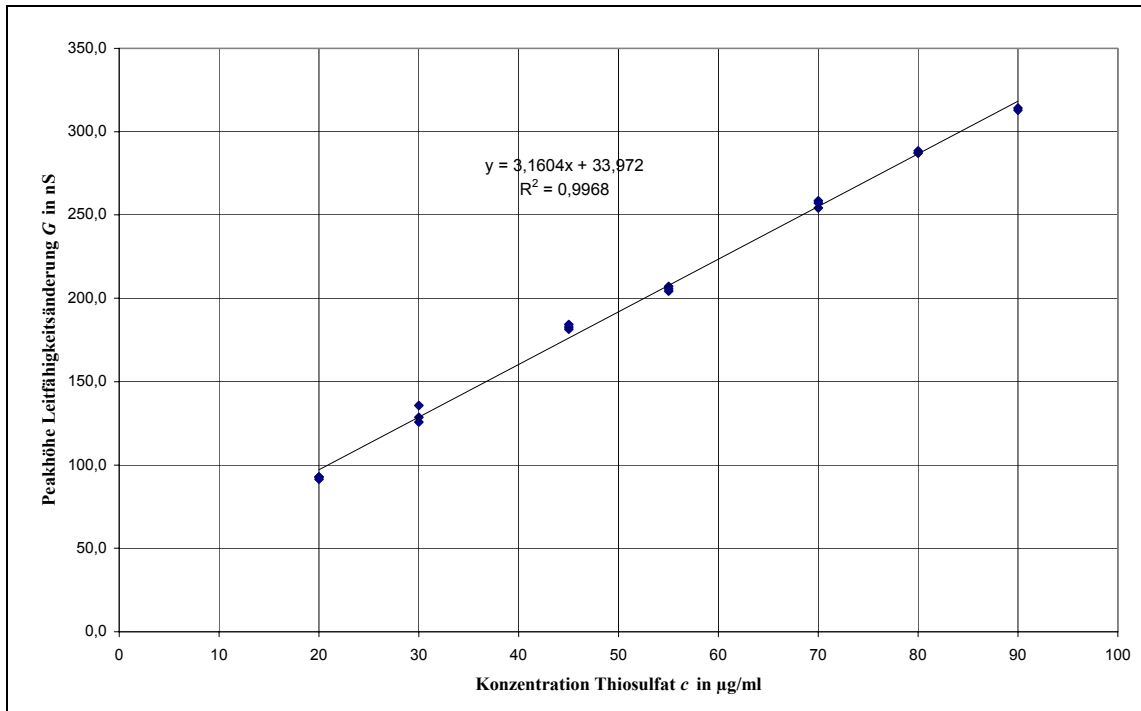


Abb. 48: Kalibrierfunktion der ionenpaarchromatographischen Bestimmung von Thiosulfat.

Der Fehler der Bestimmung entspricht einer Abweichung in der Wiederfindung von durchschnittlich 2,0 µg/mL Thiosulfat. Die Standardabweichung des Gehalts beträgt im Mittel 0,7 µg/mL ( $n = 13$ ). Das entspricht Variationskoeffizienten zwischen 1,3 % und 2,0 %.

### 3.2.3.2 Vermessen von Realproben

Die Injektionslösungen wurden derart verdünnt, dass die Konzentration gemäß der nominalen Angabe in den Datenschwerpunkt der Kalibrierung fällt. Bei einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung (berechnet als Pentahydrat) entspricht eine Verdünnung von 1:500 einer Endkonzentration von etwa 45 µg/mL Thiosulfat. Analog dazu wurden 15 %ige und 25 %ige Lösungen auf diese Konzentration verdünnt. Es erfolgte für alle Ampullen eine unabhängige Doppelbestimmung.

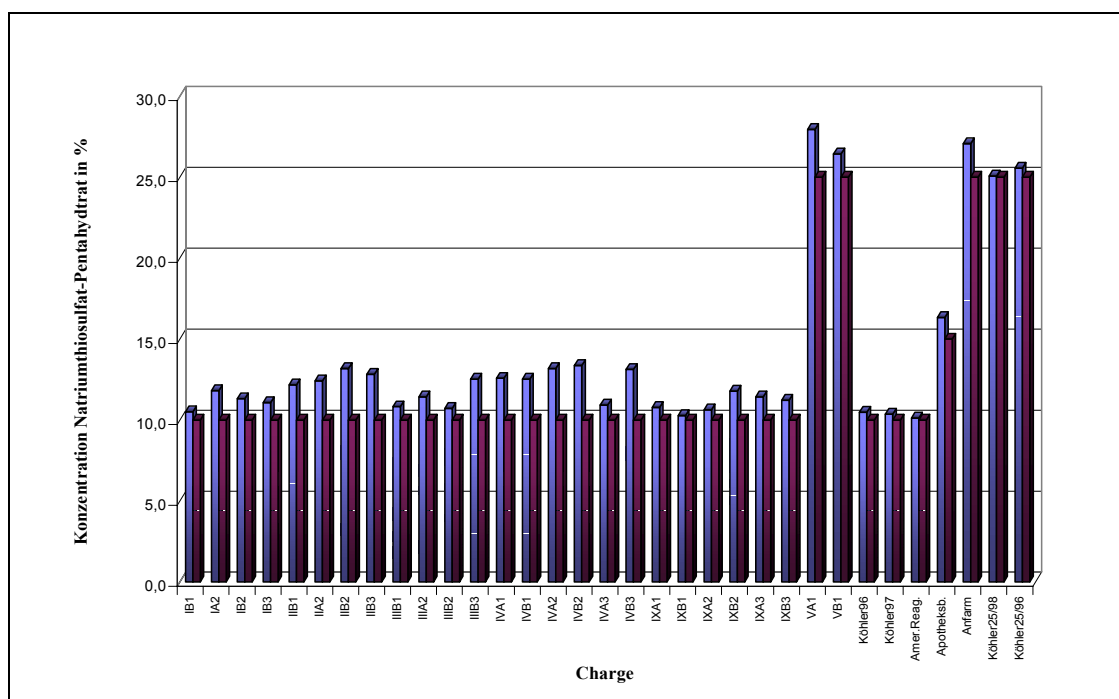


Abb. 49: Konzentration der Natriumthiosulfat-Injektionslösungen, bestimmt mit Methode IPC-LFD1 im Vergleich zur nominalen Konzentration (berechnet als Natriumthiosulfat-Pentahydrat).

Die Konzentrationen der Handelspräparate stimmen mit den nominalen Angaben gut überein. Es wurden Abweichungen nach oben ab 0,1 g / 100 mL Natriumthiosulfat bei einem Handelspräparat ( $f_{\text{proz}} = 0,3 \%$ ) bis zu 3,4 g / 100 mL Natriumthiosulfat bei einer Injektionslösung (10 g / 100 mL) eigener Herstellung ( $f_{\text{proz.}} = 33,8 \%$ ) festgestellt. Unter Berücksichtigung des 95 % Konfidenzintervalls der Bestimmung liegen hier teilweise vom Nominalwert signifikant abweichende Gehalte vor (für Natriumthiosulfat-Pentahydrat 10 g / 100 mL von 9,5 g / 100 mL bis 10,4 g / 100 mL).

### **3.2.4 Reversed Phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie**

#### **3.2.4.1 Vorversuche zur Charakterisierung der Methode – Schwefelbestimmung**

Mit der Entwicklung einer geeigneten Trennmethode soll eine Bestimmung von molekularem Schwefel durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie in den Natriumthiosulfat-Injektionslösungen eigener Herstellung als auch in Handelspräparaten ermöglicht werden. Der Gesamt-Schwefel resultiert aus dem als Verunreinigung im Rezeptur-Ausgangsstoff bereits bei Ansatz der Lösungen vorhandenen Schwefel und vor allem dem im Laufe der Herstellung und Lagerung durch Zersetzung entstandenen Schwefel.

Es wurde für diese Fragestellung eine RP-HPLC Trennmethode und eine geeignete Extraktion von Schwefel durch Ausschütteln mit Cyclohexan erarbeitet. Für die Bestimmung von Schwefel in Cyclohexan-Lösung als auch nach Extraktion des Schwefels aus Natriumthiosulfat-Lösungen durch Cyclohexan wurde der lineare Zusammenhang kalibriert. Da nach visueller Beurteilung der Ampullen nur sehr wenig Schwefel ausgefallen ist, ist auch hier eine Kalibrierung im ppm-Bereich erforderlich.

Für Schwefel als lipophile wasserunlösliche Substanz erscheint eine Reversed Phase Chromatographie an einer Säule mit octadecylsilysiertem Kieselgel geeignet. Unter den angestrebten Trennbedingungen und unter Berücksichtigung der Zusammensetzung der Injektionslösungen kommen als detektierbare Verbindungen neben Cyclooctaschwefel nur noch weitere Schwefelhomologe, diese jedoch mit geringer Wahrscheinlichkeit und dann im Ultraspurenbereich, in Frage. Sämtliche anorganischen Verbindungen werden von der stationären Phase nur wenig oder gar nicht retardiert, so dass sie mit Totzeit oder sehr zeitig eluieren. Bei der Wahl der Methode steht die quantitative Auswertung der online-Detektion im Vordergrund. Mit dem Einsatz der HPLC werden des Weiteren die Schwierigkeiten umgangen, die sich bei anderen Bestimmungsmethoden durch die Anwesenheit weiterer Schwefelverbindungen ergeben.

Es wurden bereits chromatographische Trennungen von Schwefelringen bis zu S<sub>12</sub> mit reinem Methanol als auch mit Mischungen von Cyclohexan/Methanol sowie Cyclohexan/Methanol/Ethanol als Fließmittel beschrieben [195].

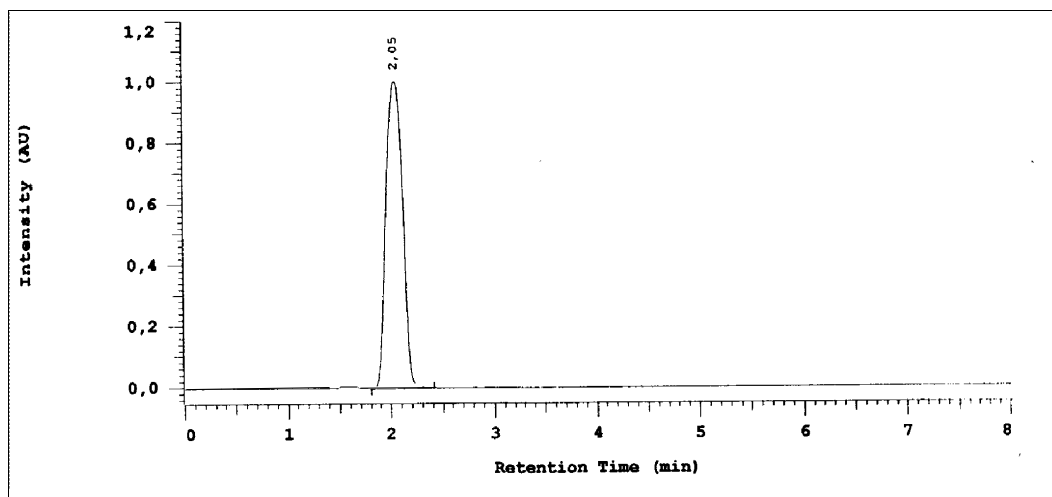


Abb. 50: Chromatogramm 500  $\mu\text{g/mL}$  Schwefel in Cyclohexan, LM: Methanol/Cyclohexan (70/30 v/v), Säule RP18 125x4, 5  $\mu\text{m}$ , endcapped, 1 mL/min.

Um ein Ausfallen des mit reinem Cyclohexan extrahierten und injizierten Schwefels auf der Säule bei Verwendung von Methanol zu vermeiden, wurde die Eignung einer mobile Phase der Zusammensetzung Methanol/Cyclohexan (70/30 v/v) überprüft. Bei einer Flussrate von 1,0 mL/min und einer Säulendimensionen von 125 x 4 mm sowie einer Partikelgröße von 5  $\mu\text{m}$  resultiert für  $\text{S}_8$  eine Retentionszeit von 2,05 min.

Die Peaksymmetrie liegt bei  $S_s = 1,0$ , der Kapazitätsfaktor beträgt  $k' = 2,41$ . Die Trennparameter wurden für alle weiteren Versuche unverändert beibehalten. Eine Veränderung des Methanolanteils um  $\pm 5\%$  resultierte in einer Verschiebung der Retentionszeiten ohne weitere Veränderungen im Chromatogramm. Eine Erhöhung des Methanolanteils ergab eine Verringerung der Retentionszeit um 0,13 min und umgekehrt. Die Kapazitätsfaktoren änderten sich dabei um  $\pm 0,2$ .

#### 3.2.4.2 Parameter der Schwefelbestimmung

Zunächst wurde mit einer Verdünnungsreihe unter Verwendung einer Stammlösung von Schwefel in Cyclohexan (5000  $\mu\text{g/mL}$ ) geprüft, ob ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration der injizierten Schwefellösung im Bereich von 100  $\mu\text{g/mL}$  bis 900  $\mu\text{g/mL}$  und dem Detektorsignal der UV-Detektion bei einer Wellenlänge von 254 nm besteht (Methode HPLC-1a). Es konnte durch lineare Regression eine Geradengleichung angepasst werden. Der Korrelationskoeffizient liegt bei 0,9959. Die

Standardabweichung des Achsenabschnitts liegt bei 66 %, wobei der Achsenabschnitt nicht signifikant von Null verschieden ist. Die Standardabweichung der Steigung liegt bei 1,5 %. Bei Betrachtung der Residuen ist eine lineare Regression zulässig.

Die Nachweisgrenze liegt bei 24 µg/mL, die Erfassungsgrenze bei 47 µg/mL und die Bestimmungsgrenze bei 108 µg/mL ( $f = 19$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 4$ ). Die Methode weist einen absoluten Fehler von durchschnittlich 3,3 µg/mL auf, der prozentuale Fehler sinkt mit steigender Konzentration von 1,6 % auf 0,5 %. Die relative Standardabweichung der gemessenen Peakflächen liegt im Mittel bei 1,4 %, die Standardabweichung des Gehalts liegt bei  $\pm 12,0$  µg/mL. Die Verfahrensstandardabweichung beträgt 3,8 %.

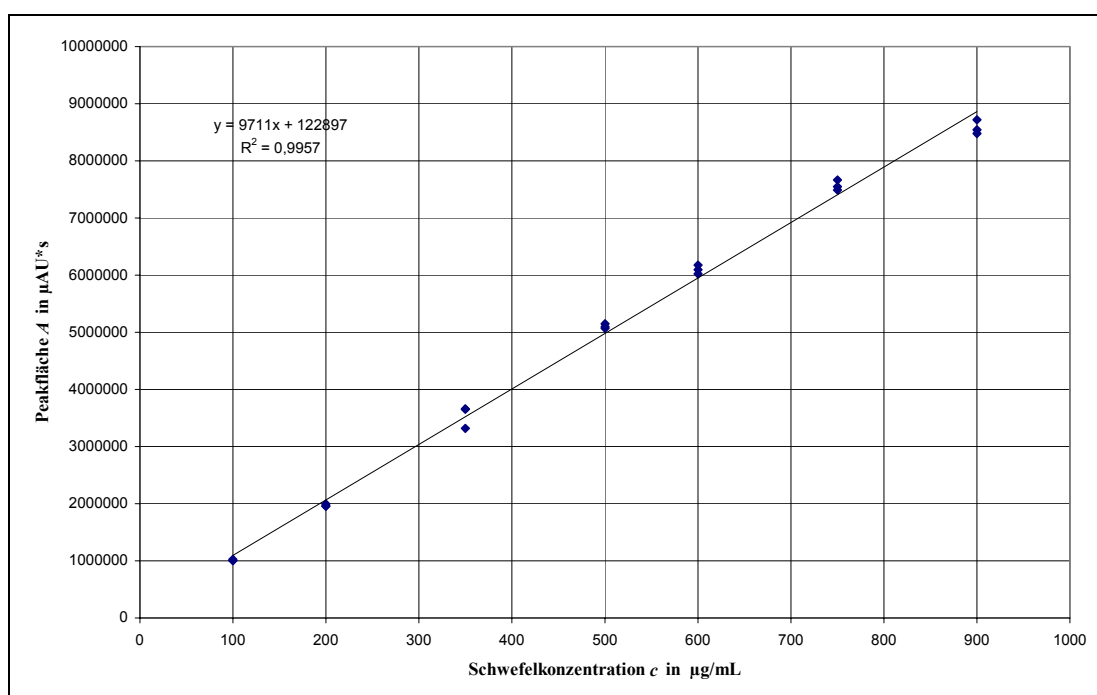


Abb. 51: Kalibrierung - Schwefel in Cyclohexan gelöst - HPLC-Bestimmung HPLC-1a.

Tab. 16: Grenzwerte der Kalibrierung.

$\Delta a$	228287,27	µAU*s
$y_k$	351184,66	µAU*s
$x_{NG}$	23,51	µg/mL
$x_{EG}$	47,02	µg/mL
$x_{BG}$	107,67	µg/mL

Für die Bestimmung des Schwefels in den Injektionslösungen ist eine Extraktion notwendig, da der wasserunlösliche Schwefel in auskristallisierter Form vorliegt. Die Existenz einer kolloiden Lösung von Schwefel, der in Polythionat-Mizellen eingeschlossen ist, wie beispielsweise beim Raffo-Sol, erscheint unter den vorliegenden Bedingungen nicht plausibel. Es werden hier nicht die entsprechenden niedrigen pH-Werte erreicht, die zu einer raschen Bildung von Polythionaten in ausreichender Menge und Kettenlänge führen würden. Die lange Lagerungszeit (1½ bis 3½ Jahre) und die Beobachtung von teilweise nadelförmigen Kristallen in den Ampullen sprechen zudem für die Bildung der thermodynamisch stabilen S<sub>8</sub>-Form.

Es wurde in kommerziell erhältlichem Schwefel je nach Herkunft und Reinheit neben Cyclooctaschwefel das Vorkommen von S<sub>7</sub>, S<sub>9</sub> und in Spuren S<sub>12</sub> beschrieben [196]. Bei dem langsamen Kristallisationsprozess in den Ampullen ist zu erwarten, dass eine Bildung von anderen Schwefelhomocyclen wie z. B. S<sub>7</sub> oder S<sub>12</sub> nicht in detektierbaren Mengen erfolgen wird.

Schwefel löst sich sehr leicht in Schwefelkohlenstoff, in allen anderen organischen Lösungsmitteln sehr schlecht und in Wasser praktisch nicht [11]. Auf eine Extraktion mit Schwefelkohlenstoff sollte hier bewusst verzichtet werden, da es sich um ein leichtflüchtiges und leichtentzündliches als auch gesundheitsgefährdendes Lösungsmittel handelt. In den Arbeiten von Steudel et al wurden bereits erfolgreich Schwefelhomologe mit Cyclohexan aus hydrophilem Schwefelsol extrahiert [100].

Es wurde für die Extraktion von S<sub>8</sub>-Schwefel aus Natriumthiosulfat in Vorversuchen ermittelt, dass bereits bei einer Konzentration von 1,5 mg Schwefel in 10 mL Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL (150 µg/mL S<sub>8</sub>), die mit 1 mL Cyclohexan 3 h ausgeschüttelt wird, die Schwefelkonzentration in der Cyclohexanphase den Detektorbereich überschreitet. Bei Annahme einer vollständigen Extraktion würde das einer Konzentration von 1500 µg/mL entsprechen. Aus den Ergebnissen der HPLC-Untersuchung von Schwefellösungen ist abzuleiten, dass innerhalb der Extraktionszeit von 3 Stunden mehr als 900 µg Schwefel in die Cyclohexanphase übergegangen sind. Entsprechend diesem Resultat wurde der Konzentrationsbereich für die Kalibrierung niedriger gewählt. Desgleichen zeigt dieser Versuch, dass Cyclooctaschwefel mit Cyclohexan in relativ kurzer Zeit extrahierbar ist.

Die Extraktion wurde anschließend an Injektionslösungen mit deutlicher Schwefelbildung zur Abschätzung der Schwefelkonzentration in den Injektionslösungen und zur Festlegung der Extraktionszeit, wiederholt.



Entsprechend dieser Ergebnisse lagen die zu erwartenden Konzentrationen bei stärker zersetzten Lösungen innerhalb des oberen Drittels des linearen Kalibrierbereiches der Bestimmung, die mit reinen Schwefellösungen in Cyclohexan durchgeführt worden war. Die Extraktionszeit wurde für die Kalibrierung auf 2 Stunden bei 25 °C verringert, die Cyclohexanmenge wurde bei 1 mL belassen.

Für die quantitative Bestimmung des Schwefels in den Natriumthiosulfat-Injektionslösungen kann eine Kalibrierung nicht mit Hilfe von Schwefellösungen in Cyclohexan erfolgen. Es muss auch für die Kalibrierung eine Extraktion unter identischen Bedingungen wie bei der quantitativen Bestimmung der Ampullen durchgeführt werden, da in den Vorversuchen ermittelt wurde, dass die Extraktion unvollständig und konzentrationsabhängig erfolgt.

Die Tatsache, dass die Zugabe eines definierten Volumens gelösten Schwefels zur Natriumthiosulfat-Lösung nicht den Ausgangsbedingungen in den Injektionslösungen entspricht und den Einfluss der Extraktion unberücksichtigt lässt, spricht gegen die Herstellung einer Verdünnungsreihe unter Verwendung einer Schwefel-Stammlösung.

Für die Kalibrierung musste aus diesem Grund die entsprechende Schwefelmenge als Feststoff direkt eingewogen werden. Zur Verringerung des Wägefehlers wurde an einer Halbmikro-Präzisionswaage mit entsprechender Vorlast gearbeitet und sowohl die Einwaage als auch die entsprechen auch die Volumina verdoppelt. Es wurde überprüft, dass bei der Verdopplung aller Mengen nach der Extraktion keine signifikante Abweichungen im Vergleich zum einfachen Volumen auftritt.

Um die Injektionslösung und den ausgefallenen Schwefel vollständig überführen zu können, wurden die Ampullen mit Reinstwasser zweimal gespült und das Spülwasser der Injektionslösung hinzugefügt. Der resultierenden Verdünnung wurde auch bei der Kalibrierung Rechnung getragen. Das Spülvolumen wurde festgelegt und entsprechend Reinstwasser bei der Kalibrierung zur Natriumthiosulfat-Lösung einschließlich der Schwefeleinwaage zugefügt.

Nach Zugabe von Cyclohexan zu jeder Verdünnung wurde auf dem Schüttelwasserbad extrahiert. Beide Phasen wurden in ein Reagenzglas überführt. Nach vollständiger Phasentrennung wurden 100 µL der oberen Cyclohexanphase mit einer Mikroliterspritze vorsichtig abgenommen und injiziert. Für jede Konzentration wurden zwei Einwaagen vorgenommen, entsprechend aufgearbeitet und nach Extraktion mit Cyclohexan vermessen.

Die quantitative Auswertung für die Kalibrierung erfolgte über die konzentrationsabhängige Peakfläche des Signals bei 2,05 min im Chromatogramm. Der lineare Bereich der Kalibrierung erstreckt sich von 200 µg/mL bis 900 µg/mL, berechnet als Schwefel in Cyclohexan. Das entspricht einem Bereich von 200 µg bis 900 µg Schwefel in 10 mL Injektionslösung.

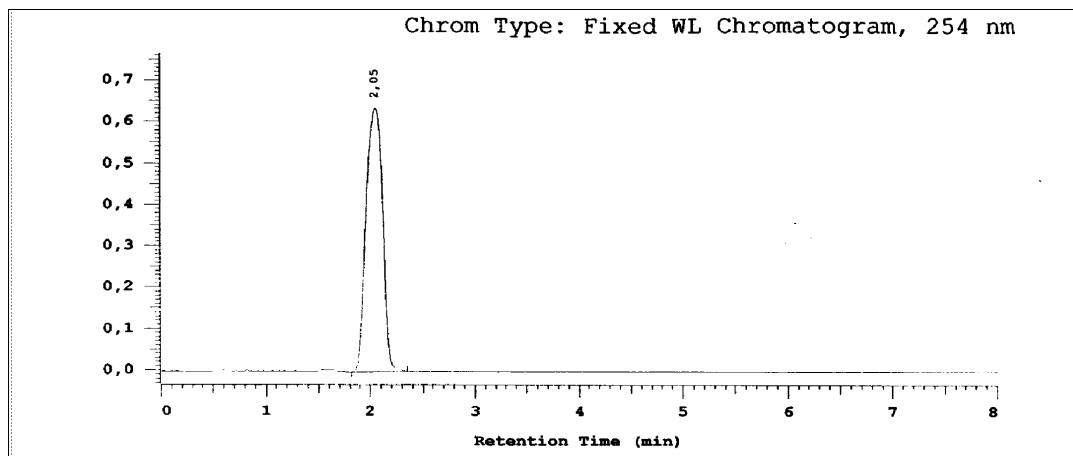


Abb. 52: Chromatogramm 500 µg Schwefel je 10 mL Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL, extrahiert mit 1 mL Cyclohexan je 10 mL Natriumthiosulfat-Lösung, HPLC-1a.

Es lässt sich zwar eine lineare Regression anpassen ( $\alpha = 0,05, f = 12$ ), jedoch wird bei einem Linearitätstest und bei Betrachtung der Residuen deutlich, dass hier ein quadratischer Ausgleich mit Anpassung eines Polynom 2. Grades vorgenommen werden muss.

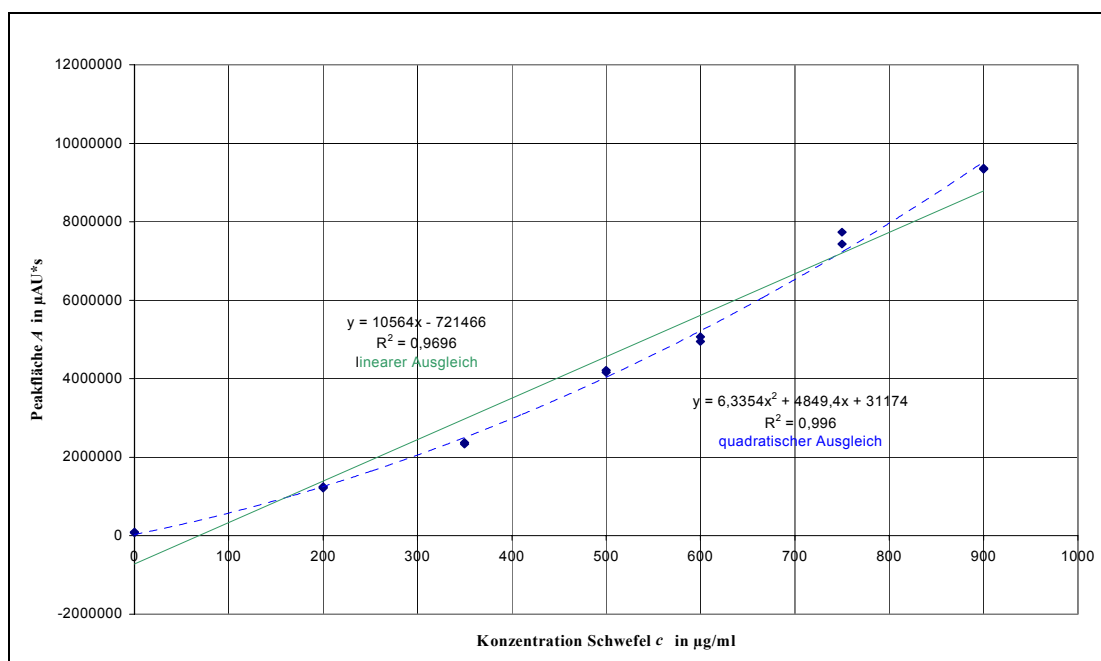


Abb. 53: Kalibrierung Schwefel aus Natriumthiosulfat mit Cyclohexan extrahiert - HPLC-1.

Das Vertrauensband ( $\alpha = 0,05$ ,  $f = 11$ ) fällt bei der quadratischen Regression im Vergleich zur linearen Regression deutlich schmaler aus und umschließt fast alle Messwerte. Die Fehlerquadratsumme und die Reststreuung fallen beim quadratischen Ausgleich ebenfalls niedriger aus ( $ss_{\text{resid\_linear}} = 4,11947 \cdot 10^{12}$ ,  $ss_{\text{resid\_quadrat}} = 4928 \cdot 10^{11}$ ,  $s_{xy\_linear} = 585924$ ,  $s_{xy\_quadrat} = 23460$ ). Das Bestimmtheitsmaß beträgt 0,996.

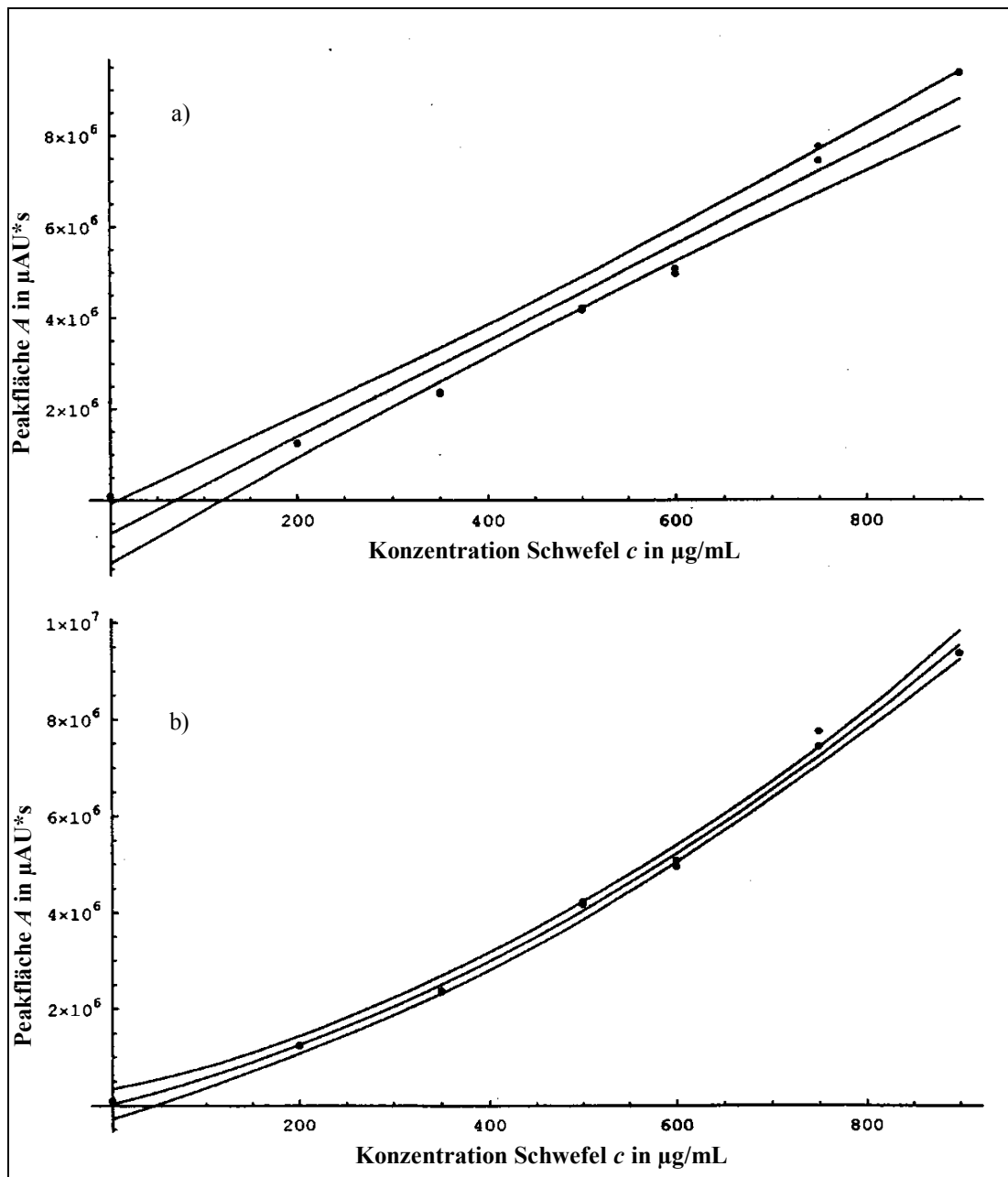


Abb. 54: Kalibrierung Schwefel aus Natriumthiosulfat mit Cyclohexan extrahiert - HPLC-1,  
a) Ausgleich lineare Regression und Vertrauensband b) Ausgleich nicht lineare Regression (Polynom 2. Grades) und Vertrauensband.

Die Standardabweichungen der Messwerte sind im Vergleich zur Bestimmung der reinen Schwefel-Lösungen erwartungsgemäß größer. Die Zahl der möglichen Fehlerfaktoren nimmt durch die geringe Einwaage und den Extraktionsvorgang zu. Der Achsenabschnitt ist nicht signifikant ( $VK_{a0} = 464 \%$ ). Die Peakfläche bei Injektion einer Natriumthiosulfat-Lösung der Ausgangssubstanz für die Ampullenherstellung ist nicht signifikant vom Leerwert verschieden.

Durch die quadratische Regression gestaltet sich die Berechnung statistischer Parameter schwieriger. Es wurde die Leerwertmethode zur Berechnung der Grenzwerte der Kalibrierung angewendet. Aus dem halbseitigen Prognoseintervall des Leerwertes ( $\alpha = 0,05$ ) wurden der kritische Messwert und die Nachweisgrenze ermittelt. Die Erfassungsgrenze wurde daraus mit  $3 \cdot NG$  und die Bestimmungsgrenze mit  $6 \cdot NG$  bzw.  $3 \cdot EG$  berechnet. Damit wird auch die Bedingung erfüllt, dass die Bestimmungsgrenze oberhalb der niedrigsten vermessenen Konzentration der Kalibrierung liegen soll. Zum Vergleich wurden die Parameter mit den Daten der linearen Regression (Leerwertmethode  $f = 12$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ) berechnet. Sie fallen erwartungsgemäß etwas höher aus.

Tab. 17: Grenzwerte der Kalibrierungen – Leerwertmethode.

Parameter	quadratische Regression	Vergleich: lineare Regression	Einheit
$\Delta y_L$	114544,46	177608,26	$\mu AU \cdot s$
$y_k$	198799	261863	$\mu AU \cdot s$
$x_{NG}$	34	93	$\mu g/10 \text{ mL}$
$x_{EG}$	68	186	$\mu g/10 \text{ mL}$
$x_{BG}$	204	284	$\mu g/10 \text{ mL}$

Die Methode weist einen absoluten Fehler von durchschnittlich  $26,7 \mu g/mL$  auf, der prozentuale Fehler der Bestimmung beträgt im Mittel  $6,0 \%$ . Die Standardabweichung des Gehalts lässt sich für den (nicht zulässigen) linearen Zusammenhang mit  $47 \mu g/mL$  berechnen. In jedem Fall liegt sie bei der quadratischen Regression auf Grund des engeren Vertrauensbandes niedriger. Die Standardabweichung des Gehalts wurde an Hand der Reststreuung und der Standardabweichungen der Regressionskoeffizienten für den quadratischen Ausgleich auf  $\approx 35 \mu g/mL$  geschätzt.

### 3.2.4.3 Vermessen von Realproben

Das Vermessen der Ampullen erfolgte in Analogie zur Vorgehensweise bei der Kalibrierung (Methode HPLC-1b), wobei nach dem Überführen des Ampulleninhalts eventuell noch vorhandene Schwefelpartikel aus der Ampulle mit definiertem Volumen von 2 mal 5 mL Reinstwasser ausgespült und vollständig ins Extraktionsgefäß überführt wurden. Nach Zugabe von 1 mL Cyclohexan wurde 2 Stunden mit einer Frequenz von  $\approx 100/\text{min}$  im Schüttelwasserbad bei 25 °C extrahiert. Der Inhalt der Extraktionsgefäße wurde in Reagenzgläser überführt. Nach einer Ruhezeit zur Phasentrennung wurden mit einer Mikroliterspritze 100  $\mu\text{l}$  abgenommen und injiziert. Die Chromatographie-Bedingungen wurden beibehalten. Lag die so bestimmte Schwefelkonzentration höher als der kalibrierte Bereich, wurde eine Verdünnung eines Anteils der Cyclohexanphase im Verhältnis 1 : 1 vorgenommen, diese Lösung vermessen und der Gehalt entsprechend rückgerechnet.

Für jede Charge erfolgten Doppelbestimmungen. Alle Lösungen wurden zweimal vermessen. Zur Auswertung wurde die Fläche des Peaks bei 2 min herangezogen. Die Methode wurde zwischen den Messungen sowohl mit Standardlösungen als auch mit Standardextrakten von Schwefel überprüft. Bei keinem Chromatogramm konnten Nebenpeaks, die weitere Schwefelhomocyclen entsprochen hätten, beobachtet werden.

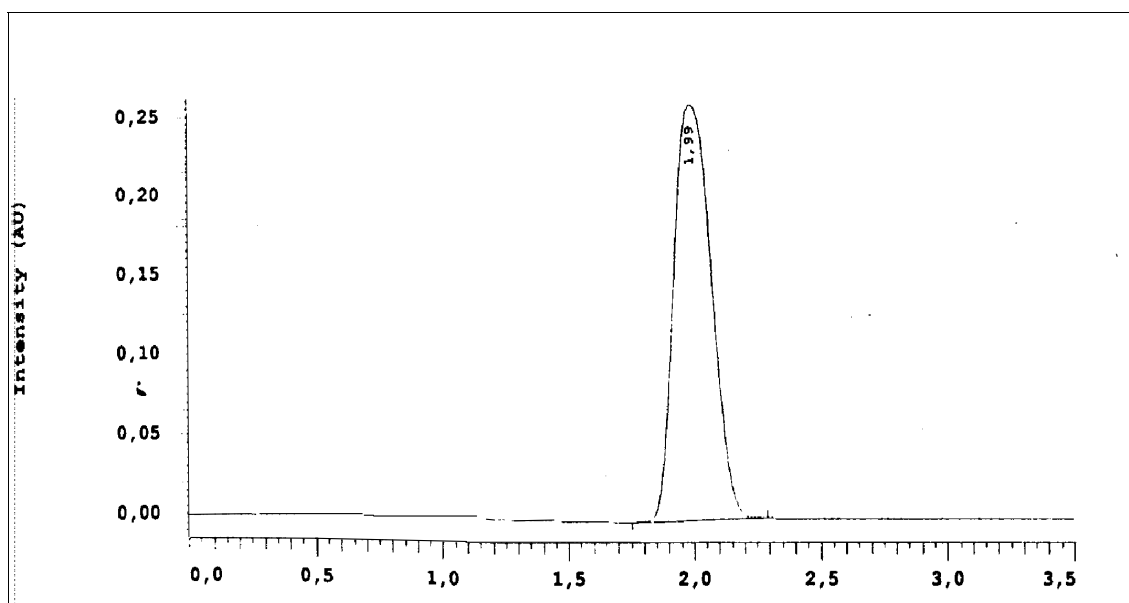


Abb. 55: Chromatogramm der Injektionslösung Charge IVA2 - HPLC-1b.

Die Schwefelkonzentrationen der Injektionslösungen wurden mit Hilfe der Gleichung des quadratischen Ausgleichs berechnet. Sie bewegen sich zwischen Werten von unterhalb der Nachweisgrenze bis deutlich oberhalb der Bestimmungsgrenze. Man kann zwischen Injektionslösungen mit starker Schwefelabscheidung und solchen Zubereitungen, die praktisch ohne messbare Schwefelbildung die Herstellung und Lagerung überdauerten, unterscheiden. Die sterilfiltrierte Charge IA2 fällt mit  $140,8 \mu\text{g/mL}$  ( $1408 \mu\text{g}$  in  $10 \text{ mL}$  Injektionslösung) durch einen besonders hohen Wert auf.

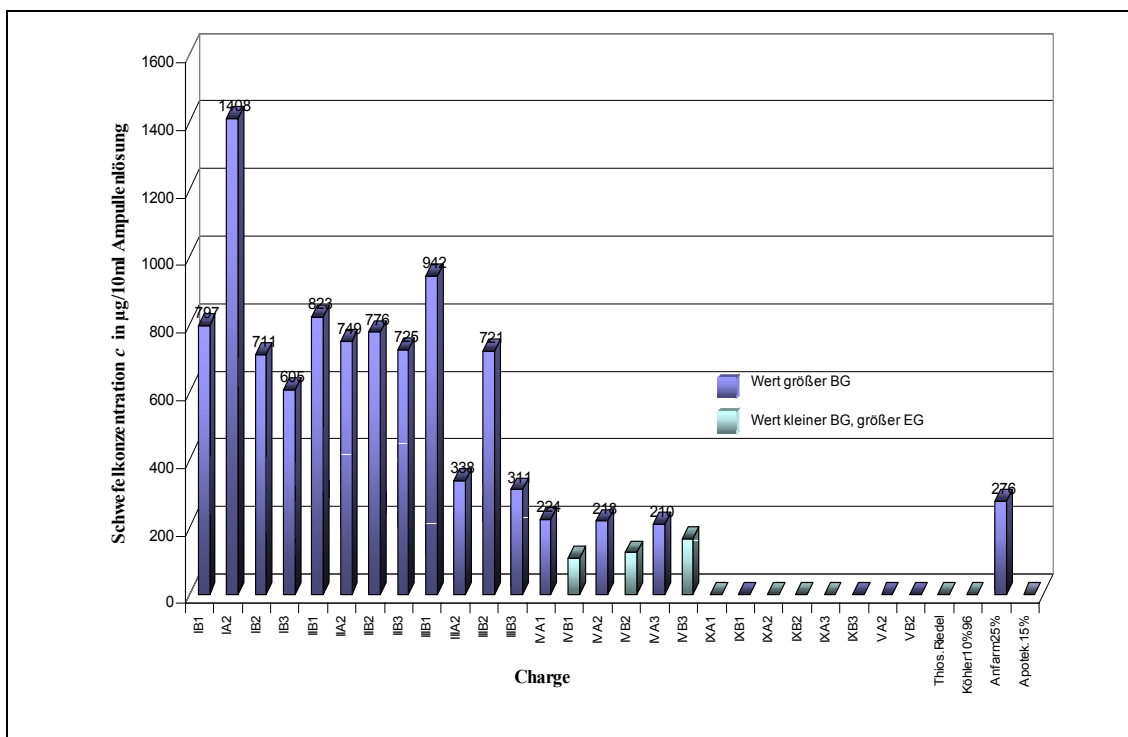


Abb. 56: Schwefelkonzentrationen der Natriumthiosulfat-Injektionslösungen - Bestimmung nach Extraktion mit Cyclohexan und HPLC-Bestimmung.

Eine vergleichende Beuteilung der einzelnen Ampullen ist auch möglich, wenn man die Konzentration an Natriumthiosulfat in den entsprechenden Natriumthiosulfat-Injektionslösungen berücksichtigt. Es wurden im Verlauf der Lagerung bis zu  $1050 \mu\text{g}$  Schwefel je g Natriumthiosulfat durch Zersetzung gebildet. Die in den Lösungen enthaltenen Schwefelmengen unterscheiden sich nach Lagerungszeitraum, Keimverminderungsverfahren und Ampullenrezeptur. Unabhängig von den genannten Kriterien ist bei den meisten Zubereitungen die Zunahme der Schwefelkonzentration über den Zeitraum von  $3\frac{1}{2}$  Jahren feststellbar.

Legt man Gleichung (I) (s. S. 22) zugrunde, so entspricht im Fall der Charge IA2 die gebildete Menge von 1050 µg Schwefel einer Zersetzung von etwa 8,1 mg Natriumthiosulfat-Pentahydrat, was einem Anteil von 0,6 % der konfektionierten Menge entspricht (Berechnungsgrundlage für den Gehalt an Natriumthiosulfat: Bestimmung mit DPP).

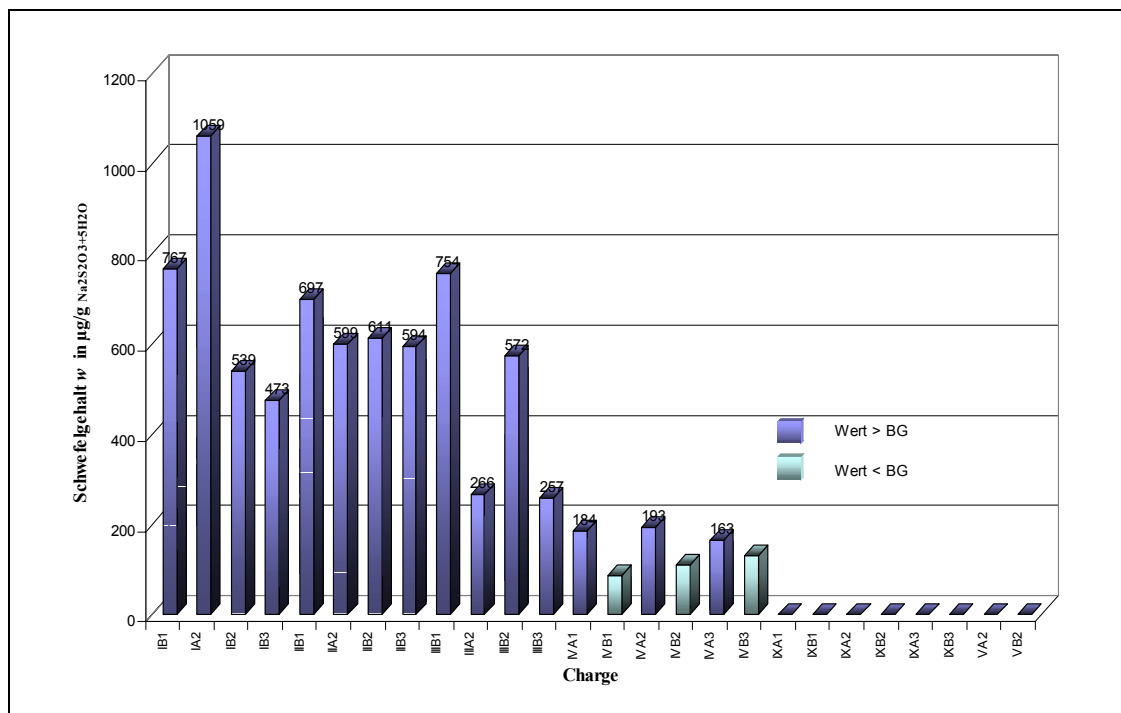


Abb. 57: Schwefelgehalt der Natriumthiosulfat-Injektionslösungen - bezogen auf die in den Lösungen enthaltene Menge an Natriumthiosulfat-Pentahydrat.

Für die Ampullen der Chargen IX und V lagen die gemessenen Schwefelkonzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze. Es kann vermutet werden, dass weitestgehend keine Zersetzung der Lösung unter Schwefelabscheidung stattgefunden hat. Beim Vergleich von sterilisierten und sterilfiltrierten Ampullen einer Charge ergibt sich kein einheitliches Bild. Im Falle der Charge III enthält die sterilisierte Charge eindeutig mehr Schwefel, im Falle der Charge I enthält die sterilfiltrierte Charge deutlich mehr Schwefel. Im Fall der Charge IV wurde in allen drei Jahren eine Teilung des Ansatzes durchgeführt. Die Schwefelkonzentration der sterilfiltrierten Lösung liegt in allen Fällen höher.

Bei allen untersuchten Handelspräparaten lag mit Ausnahme der Zubereitung der Fa. Anfarm die Schwefelkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze. Die Lösung der Fa. Anfarm wies eine Schwefelkonzentration vom 276 µg / 10 mL Injektionslösung auf. Die Schwefelabscheidung war in diesem Fall auch als Niederschlag erkennbar.

### 3.2.5 Kapillarelektrophorese

#### 3.2.5.1 Vorversuche zur Beurteilung von Trennsystemen

Die untersuchten schwefelhaltigen Ionen sind einfach oder zweifach negativ geladen und unterscheiden sich vorrangig in der Anzahl der im Ion gebundenen Schwefel- und Sauerstoffatome. Entsprechend ihrer Ladung und Struktur weisen sie unterschiedliche Massen und Ionenradien auf, die im solvatisierten Zustand z. T. wieder nivelliert werden. Ionenstärke (Konzentration des Elektrolyten), Viskosität (Zusatz organischer Lösungsmittel), pH-Wert (pH-Wert 5 - 10) und Temperatur (15 °C bis 60 °C) wurden variiert. Dadurch wurden die elektrophoretischen Mobilitäten und die Selektivitätsfaktoren der Ionen beeinflusst. Bei der Wahl des pH-Werts, der organischen Zusätze (Methanol, n-Propanol, Acetonitril, THF, Aceton), der Art des Elektrolyten (Pyromellitsäure, Chromat, Phosphat, Trimesinsäure, u. a.) und der Kapillare („fused silica“, als Quarz bezeichnet, Amin- und Alkyl-Oberflächen) wurde auch der Einfluss auf den EOF berücksichtigt.

#### *Trennsysteme mit Chromat (indirekte Detektion)*

Chromat weist als anorganisches Ion eine sehr hohe elektrophoretische Mobilität, verbunden mit einer hohen Absorption im UV-Bereich auf, wodurch es für die Trennung anorganischer Ionen geeignet erscheint. Es wurden verschiedene Chromat-Konzentrationen von 1 mmol/L bis 10 mmol/L getestet. Als EOF-Modifikatoren wurden CTAB oder TEMED bei verschiedenen pH-Werten von 8 bis 10 eingesetzt. Der Einfluss eines Methanolzusatzes wurde ebenfalls untersucht.

Es wurde beobachtet, dass durch den starken, anodischen EOF unter CTAB die Auflösung der Signale der entscheidenden Ionen sehr gering ausfällt. Für Konzentrationen im mittleren ppm-Bereich gelingt für Thiosulfat und Sulfat noch eine Basislinientrennung, vorausgesetzt, kein Ion liegt im Überschuss vor. Bei höheren Konzentrationen verschmelzen die Peaks und eine Quantifizierung wird unmöglich. Modifikationen der Feldstärke, der Temperatur der Konzentration an CTAB und ein Methanolzusatz brachten bei deutlich längeren Migrationszeiten keine Verbesserung der Auflösung und gingen einher mit einer Verschlechterung der Peaksymmetrie.



Tab. 18: Beispiele für die Beeinflussung der Trennung bei Änderung der Feldstärke, der Temperatur und des Methanolgehalts (v/v).

5 mmol/L Chromat, 0,5 mmol/L CTAB, pH 9,2, Kapillare Quarz,	Thiosulfat $t_m$ in min	Sulfat $t_m$ in min	Sulfit $t_m$ in min	$\alpha$ Thio-Sulfat	$\alpha$ Sulfat-Sulfit
695 V/cm, 25 °C, MeOH 10 %	0,93	0,95	1,15	1,02	1,21
465 V/cm, 25 °C, MeOH 10 %	1,40	1,44	1,56	1,03	1,08
141 V/cm, 20 °C, MeOH 16 %	10,44	10,72	11,63	1,03	1,08

Zur Bestimmung von Sulfat, Tetrathionat und Sulfit in Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL reichte die erreichte Auflösung ( $R_s < 1$ ) jedoch nicht. Zur vollständigen Trennung war eine so starke Verdünnung der Lösung nötig, dass die Nachweisgrenzen der zu bestimmenden Ionen die in den Injektionslösungen vorhandenen Konzentrationen überstiegen. Sulfit konnte nur in hohen Konzentrationen, bei Methanol-Stabilisierung und Stickstoffbegasung detektiert werden. Eine CTAB-Konzentration oberhalb der CMC brachte ebenfalls keine verbesserte Auflösung.

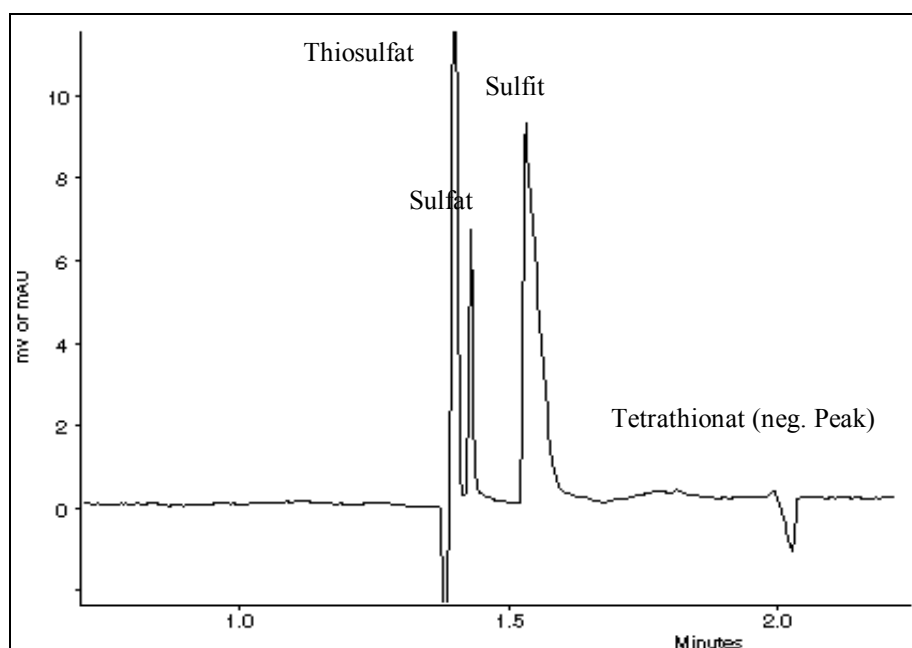


Abb. 58: Elektropherogramm – Trennbedingungen: Chromat 5 mmol/L, CTAB 0,5 mmol/L, MeOH 10 % (v/v), pH-Wert 9,23; -20 kV ( $E = 465$  V/cm), 25°C, ind. Detektion  $\lambda = 254$  nm; Kapillare 43 cm/75  $\mu$ m Quarz; Inj. 2 sec hydrodynamisch, Probe: Tetrathionat 400  $\mu$ g/mL und Sulfit 500  $\mu$ g/mL (Stammlösung stickstoffbegast) – Tetrathionat abgebaut zu Sulfat, Thiosulfat und Trithionat (hier nicht aufgelöst).

Während eine Bestimmung bei deutlichem Überschuss einer Komponente mit ähnlicher Mobilität nicht durchführbar ist, eignet sich das Chromat-System gut, um verschiedene schwefelhaltige Ionen im unteren ppm-Bereich bei annähernd gleichen Konzentrationen

nachzuweisen. So konnten z. B. in Natriumsulfid die Zersetzungsprodukte Sulfit, Sulfat und Thiosulfat detektiert werden.

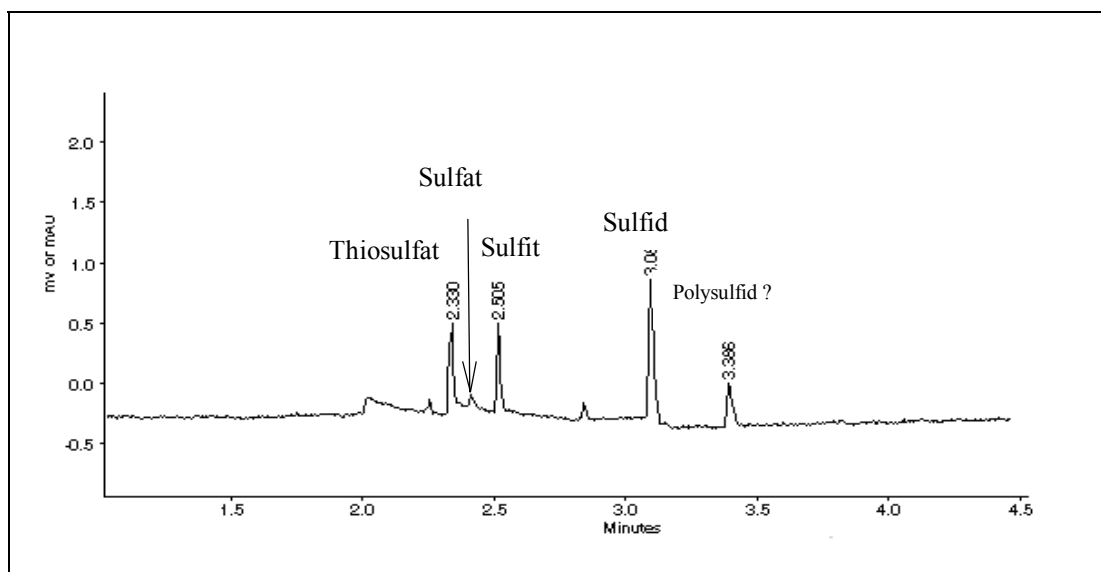


Abb. 59: Elektropherogramm – Trennelektrolyt: Chromat 5 mmol/L, CTAB 0,5 mmol/L, pH-Wert 9,7, Trennbedingungen: -14 kV ( $E = 325 \text{ V/cm}$ ),  $15^\circ\text{C}$ , ind. Detektion  $\lambda = 254 \text{ nm}$ ; Kapillare 43 cm/50  $\mu\text{m}$  Quarz; Inj. 5 sec. hydrodynamisch, Probe: Sulfid 20  $\mu\text{g/mL}$  mit Abbauprodukten.

Mit TEMED als EOF-Modifikator konnte im Vergleich zum CTAB eine bessere Auflösung der Peaks erreicht werden. Insbesondere die Selektivitätsfaktoren für Sulfat und Thiosulfat wurden erhöht. Eine Bestimmung von Sulfat neben höheren Thiosulfat-Konzentrationen erscheint somit möglich. Eine Veränderung der sonstigen Trennbedingungen (Temperatur, Feldstärke, pH-Wert) brachte keine entscheidende Verbesserung. Sulfit weist bei diesen Bedingungen ein deutliches Tailing auf.

Eine Einführung eines Spannungsgradienten mit Absenkung der Feldstärke im Bereich der dichten Peakfolge [Absenken der Spannung von -25 kV bei 3 min mit einem Abfall linear über je 0,2 min auf -10 kV und wieder Anstieg ab 6 min auf -25 kV] resultierte zwar in einer besseren Auflösung, jedoch zu Lasten der Robustheit. Dies äußerte sich in starken und nicht reproduzierbaren Basislinienstörungen.

Tab. 19: Beispiele für die Beeinflussung der Trennung bei Änderung der Feldstärke.

Chromat 5 mmol/L, pH 8,0 TEMED 0,68 mmol/L, Kapillare Quarz,	Thiosulfat $t_m$ in min	Sulfat $t_m$ in min	Sulfit $t_m$ in min	$\alpha$ Thio.-Sulfat	$\alpha$ Sulfat-Sulfit
581 V/cm, $35^\circ\text{C}$ ,	3,35	3,95	6,54	1,18	1,66
465 V/cm, $35^\circ\text{C}$ ,	4,10	4,78	7,90	1,17	1,65

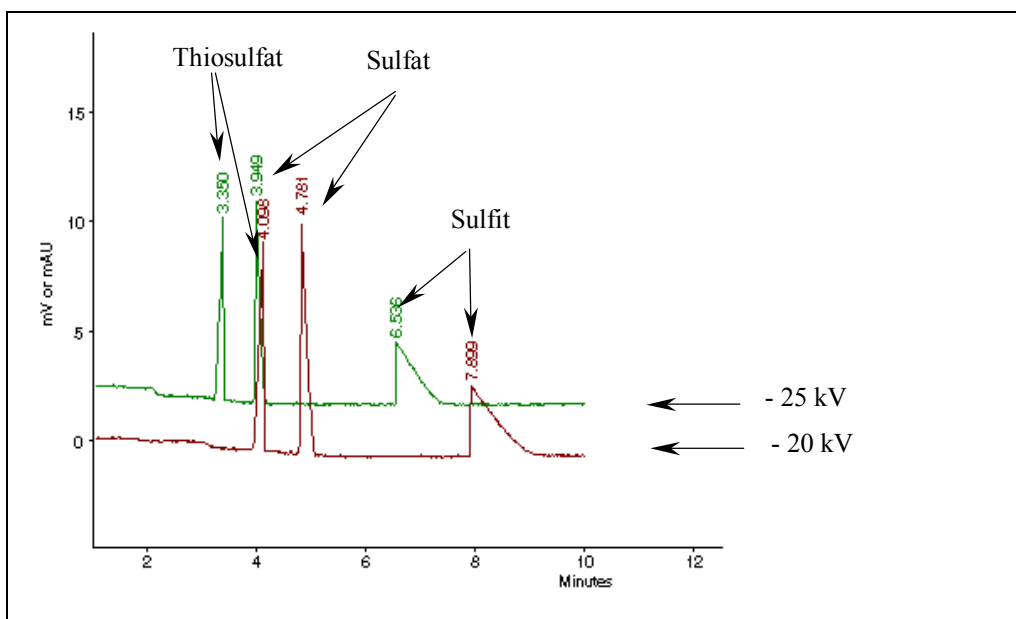


Abb. 60: Elektropherogramm – Elektrolyt: Chromat 5 mmol/L, TEMED 0,68 mmol/L, pH-Wert 7,98, Trennbedingungen: -25 kV ( $E = 581 \text{ V/cm}$ ) bzw. -20 kV ( $E = 465 \text{ V/cm}$ ), 35 °C, ind. Detektion  $\lambda = 369 \text{ nm}$ ; Kapillare: Quarz 43 cm / 50  $\mu\text{m}$ ; Inj. 5 sec., Probe: Thiosulfat, Sulfat, Sulfit je 50  $\mu\text{g/mL}$ .

Die Bestimmung der Polythionate gelang mit beiden Chromat-basierenden Trennsystemen im unteren ppm-Bereich auf Grund der höheren Extinktionskoeffizienten der Ionen nicht. Bei einer Kalibrierung von Sulfit in thiosulfatfreier Matrix liegt die Untergrenze des linearen Bereichs bei 5  $\mu\text{g/mL}$ , kleinere Konzentrationen waren unter diesen Bedingungen nicht mehr nachweisbar. Neben Thiosulfat erhöht sich die Nachweisgrenze auf etwa 50  $\mu\text{g/mL}$ . In den Injektionslösungen konnte bei Verdünnung einer Lösung mit 10 g / 100 mL 1:100 mit 10  $\mu\text{g/mL}$  Sulfat dotiert (entspricht 10000  $\mu\text{g/mL}$  in unverdünnter Lösung) nur bei langen Injektionszeiten (15 sec) Sulfat nachgewiesen werden. Systempeaks störten bei beiden Systemen teilweise die Bestimmung. Die Trennsysteme wurden deshalb für die gesuchte Anwendung als ungeeignet eingestuft.

### ***Trennsystem mit Pyromellitsäure (indirekte Detektion)***

Pyromellitsäure (1,2,4,5 Benzentetracarbonsäure) eignet sich einerseits durch ihr chromophores System zum Einsatz in der Kapillarelektrophorese mit indirekter Detektion, andererseits weist sie durch ihre, je nach pH-Wert deprotonierten, negativ geladenen Carbonsäurefunktionen eine elektrophoretische Mobilität ähnlich der Mobilität der zu bestimmenden anorganischen Ionen auf. Dadurch werden weitestgehend symmetrische Signale erhalten.

Unter Berücksichtigung größtmöglicher Selektivität der Trennung der schwefelhaltigen Ionen bei ausreichender Auflösung der Signale als auch akzeptablen Migrationszeiten erwiesen sich hauptsächlich DETA (Diethylentriamin) und TEMED (N N, N', N' Tetraethylendiamin) als geeignete EOF-Modifikatoren. Die Trennergebnisse bei Verwendung von Hexamethoniumsalzen, Tetrabutyl- und Cetyltrimethylammoniumsalzen fielen auf Grund zu geringer Selektivität bei zu dichter Peakfolge, besonders im Hinblick auf die Trennung von Thiosulfat, Sulfat und Trithionat, unbefriedigend aus. Derartige Trennsysteme wurden deshalb nach entsprechenden Vorversuchen nicht weiter verfolgt.

Es wurden sowohl verschiedene Quarzkapillaren als auch CElectAmin<sup>®</sup> Kapillaren mit einer mit Aminogruppen modifizierten Oberfläche, was zu einer EOF-Umkehr durch die positive Ladung der Kapillarwandung führt, getestet. Bei den Quarzkapillaren wurde in diesem Zusammenhang festgestellt, dass beim Einsatz verschiedener Kapillar-Chargen die Trennergebnisse bei Betrachtung der mittleren Migrationszeiten und der Selektivitätsfaktoren abweichen. Mit der CElectAmine<sup>®</sup> Kapillare wurden höhere Mobilitäten der Ionen bei sonst vergleichbaren Bedingungen beobachtet. Die Selektivitäten sind ähnlich. Eine vollständige Trennung von Polysulfiden gelang optimal mit der CElectAmine<sup>®</sup> Kapillare.

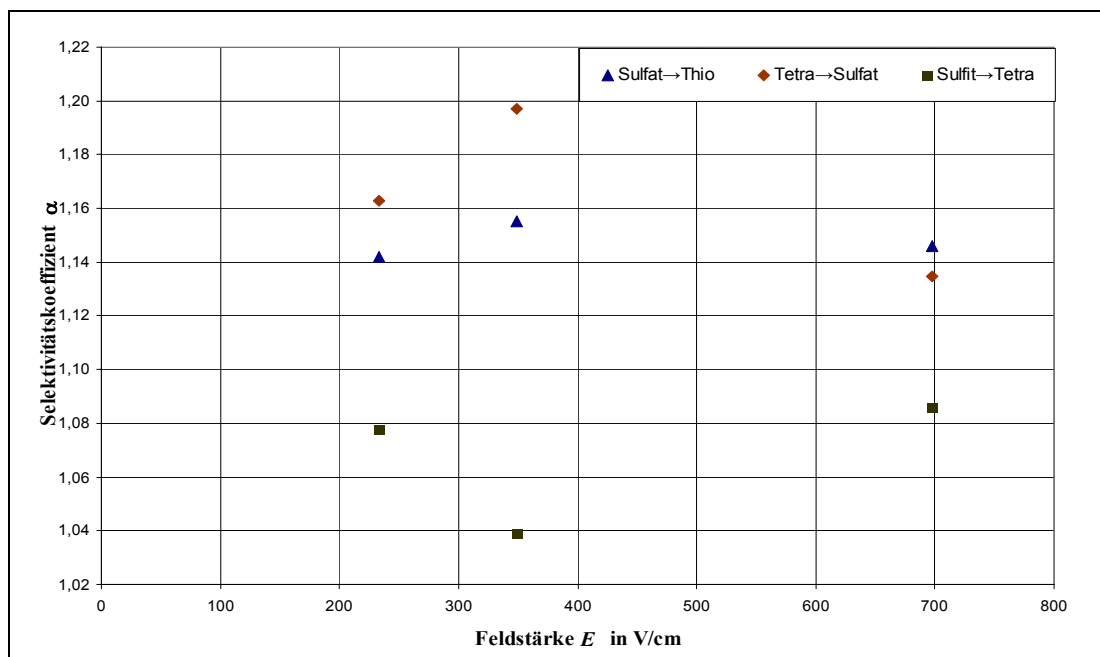


Abb. 61: Beeinflussung der Selektivitätsfaktoren durch die Feldstärke - Trennbedingungen:  
PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L, pH 9,5; Kapillare 43 cm / 50 µm Quarz, 30 °C.

Eine Modifizierung der Feldstärke veränderte erwartungsgemäß die Migrationszeiten, führte jedoch zu keiner Verbesserung der problematischen Auflösung von Trithionat und Sulfat. Eine Erhöhung der Feldstärke führte bei allen Ionen zu kürzeren Migrationszeiten, jedoch teilweise begleitet durch abnehmende Signalauflösung und verstärkte Basislinienstörungen. Bei sehr geringer Feldstärke wurden bei langsameren Ionen unsymmetrische Peaks beobachtet. Die Selektivitätsfaktoren weisen feldstärkenabhängige Maxima und Minima auf (z. B.  $\alpha_{\text{Tetrathionat} - \text{Sulfit}}$  bei einem PMA/DETA-Trennsystem: Minimum bei etwa 400 V/cm; s. Abbildung 62).

Bei Zusatz von organischen Lösungsmitteln zum jeweiligen Trennsystem verändert sich die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen je nach Art und Menge des Zusatzes. Es ändern sich gleichzeitig die Selektivitätsfaktoren. Ein einheitlicher Zusammenhang konnte jedoch nicht beobachtet werden. Ein Zusatz von Acetonitril verringert die Migrationszeiten. Gleichzeitig verschlechtert sich jedoch die Auflösung von Thiosulfat, Sulfat und Tetrathionat und eine Deformation des Thiosulfat-Signals wurde beobachtet. Bei einem Zusatz von 10 % Acetonitril (v/v) im Elektrolyten wurde eine Basislinientrennung der drei Ionen nicht mehr erreicht. Das Signal für Trithionat fällt unter diesen Bedingungen völlig mit Sulfat zusammen.

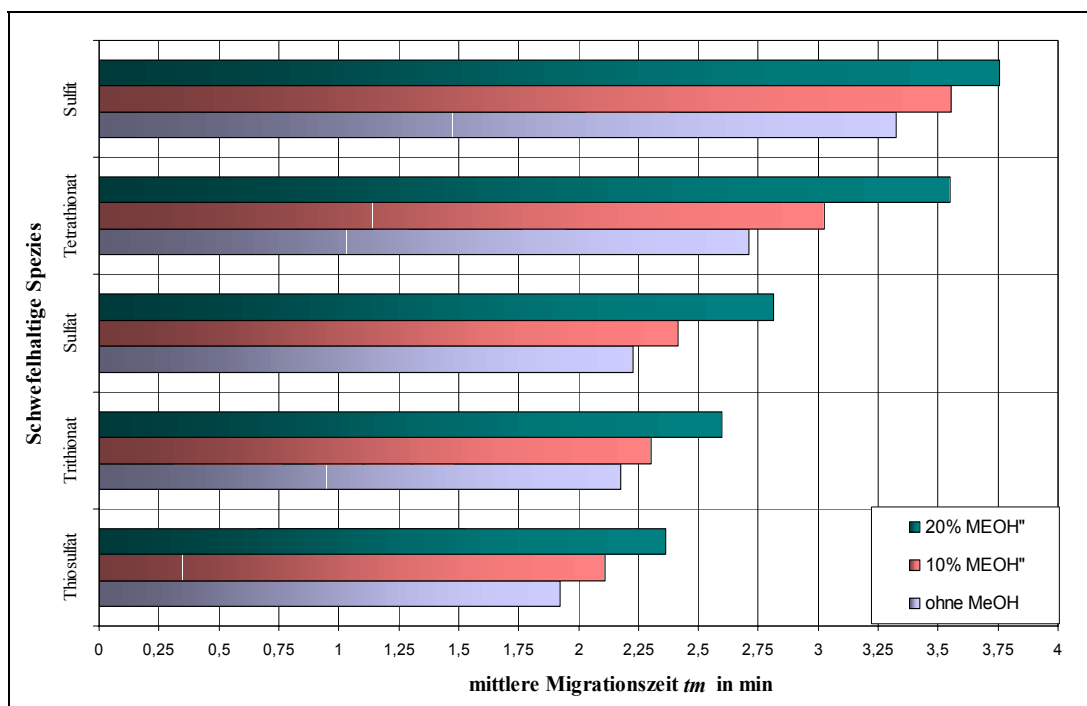


Abb. 62: Beeinflussung der Migrationszeiten durch Methanolszusatz – Trennbedingungen:

PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L, pH 9,7; -30 kV, 30 °C, Kapillare 43 cm / 50 µm Quarz; Probe: je 70 µg/mL je Ion.

Ein Zusatz von Methanol und n-Propanol erhöht im Gegensatz dazu die Migrationszeiten der Ionen. Bei beiden Lösungsmitteln wird die Trennung der Ionen verbessert. Bei Zusatz von n-Propanol erhöht sich die Auflösung Trithionat und Sulfat sowie der Polysulfide. Ein analoger Effekt auf die Auflösung Trithionat - Sulfat sowie Sulfid - Tetrathionat wurde bei Zusatz von Methanol beobachtet, besonders bei Systemen mit TEMED. Dieser Effekt verstärkt sich mit zunehmendem Methanol-Gehalt. Oberhalb eines 25 %igen Lösungsmittel-Zusatzes treten jedoch verstärkte Basislinienstörungen auf.

Bei einer Annäherung des pH-Wertes von pH 6 an den Neutralpunkt wurde meist keine signifikante Änderung der Migrationszeiten beobachtet. Lediglich bei Sulfid war hier eine deutliche Zunahme der Mobilität, vermutlich durch Deprotonierung des Hydrogensulfits, zu beobachten. Eine weitere Erhöhung des pH-Wertes über einen pH von 8 führte - auch bei Trennsystemen mit Zusatz von Tensiden, n-Propanol oder Methanol - zu längeren Migrationszeiten durch Zunahme des kathodisch gerichteten EOF. Vergleichbar sind hier nur Untersuchungen an identischen Kapillaren und nach ausreichender Konditionierung. Die Migrationszeiten der einzelnen Ionen änderten sich bei pH-Wert Änderungen nicht einheitlich. Somit ging mit einer Änderung des pH-Wertes auch eine Änderung der Selektivitätsfaktoren einher. Besonders auffällig ist die Veränderung in der Migrationsreihenfolge von Tetrathionat und Sulfid. Die Signalauflösung von Trithionat und Sulfat wurde nur gering beeinflusst.

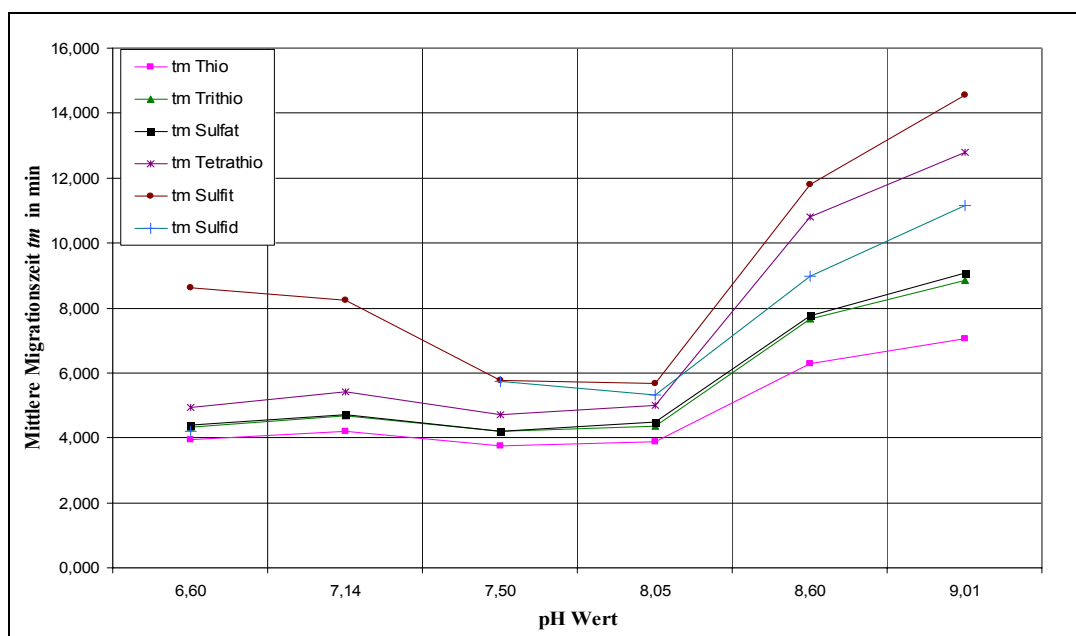


Abb. 63: Beeinflussung der Migrationszeiten durch Änderung des pH-Wertes - Trennbedingungen: PMA/TEMED 6 mmol/L / 5 mmol/L, pH 6,5 bis 9,0; -15 kV, 25 °C; Kapillare 43 cm / 75 µm Quarz.

Bei stärker alkalischem pH wurden zunehmend Basislinienstörungen beobachtet. Eine Trennung im sauren pH-Bereich unter pH 6 führte zu einer verschlechterten Auflösung bis zu nicht mehr basisliniengetrennten Signalen und deformierten Peaks.

Eine Veränderung der Ionenstärke führte neben Änderungen der Migrationszeiten ebenfalls zu Selektivitätsänderungen.

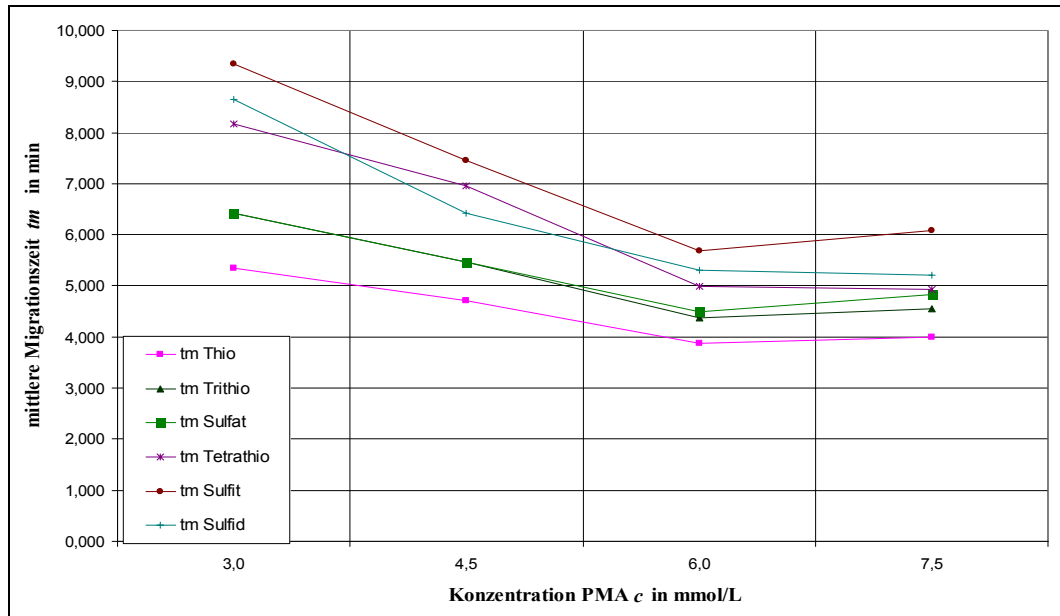


Abb. 64: Abhängigkeit der Migrationszeiten von der Ionenstärke (Konzentration PMA) bei pH 8 – Trennbedingungen: TEMED 5 mmol/L, pH 8,0, -15 kV, 25 °C; Kapillare 43 cm / 75 µm Quarz.

Die Auswirkungen einer Änderung der Ionenstärke des Elektrolyten auf die Mobilität der Ionen ist pH-Wert abhängig. Hier kommt es zu einem komplizierten Zusammenspiel von Deprotonierung der Silanolgruppen der Kapillarwand, Dissoziation des Elektrolyten (PMA), Zeta-Potential sowie Dissoziation und Solvation der Ionen.

Der kathodische EOF wird bei Zunahme der Ionenstärke reduziert. Die Ionenstärke nimmt mit dem pH-Wert durch Dissoziation der Pyromellitsäure zu. Der EOF wird durch steigenden pH-Wert erhöht. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen nimmt bei zunehmender Ionenstärke durch Reduktion der effektiven Ladung bei Abnahme der diffusen Doppelschicht ab.

Einige Ionen werden bei zunehmendem pH deprotoniert und erhöhen somit ihre Ladung. Für pH-Werte oberhalb pH 7 wurden bei verschiedenen Pufferkonzentrationen variierende Minima und Maxima der Mobilitäten beobachtet. Bei  $\text{pH} \leq 7$  gab es meist keine signifikanten Änderungen in der Mobilität bei Änderung der Ionenstärke.

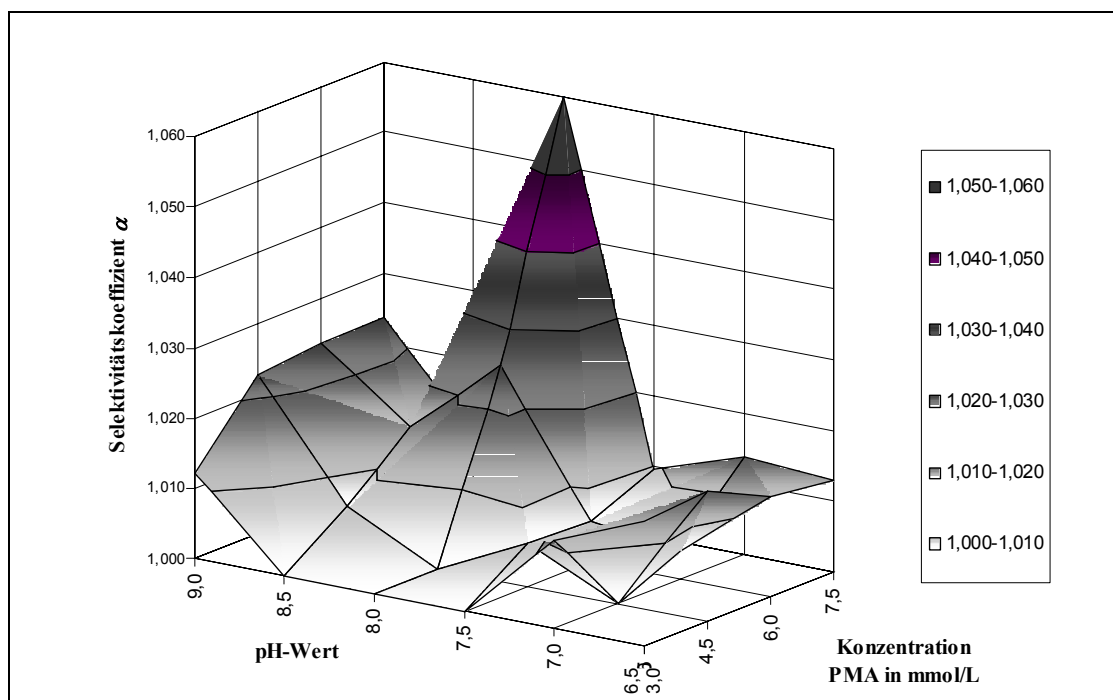


Abb. 65: Beispiel für das Trennverhalten (Selektivitätsfaktoren) von Sulfat - Trithionat in Abhängigkeit von Ionenstärke und pH-Wert – Trennbedingungen: PMA 3,0 bis 7,5 mmol/L, TEMED 5 mmol/L, pH 6,5 bis 9,0; -15 kV, 25 °C; Kapillare 43 cm / 75 µm Quarz, Proben: je Ion 70 µg/mL.

Die Selektivitätsfaktoren änderten sich aus den angeführten Gründen teilweise sehr deutlich in Abhängigkeit von den beiden Parametern pH-Wert und Ionenstärke. So wurden z. B. Trithionat und Sulfat bei pH 8 bis 8,5 mit 3 mmol/L PMA (TEMED als EOF-Modifikator) nicht getrennt, während bei 6 bis 7,5 mmol/L PMA eine Trennung erfolgte. Bei pH 8,5 zeichnete sich bereits bei 4,5 mmol/L eine Trennung ab. Sulfid änderte seine Position in der Migrationsreihenfolge deutlich von einer Detektion nach Sulfit bis hin zu einer Detektion vor Tetrathionat und Sulfit. Bei pH-Werten unter 7 war die Bestimmung von Sulfid nicht möglich, da die Peakidentifizierung auch bei Dotierung uneindeutig blieb.

Für akzeptable Migrationszeiten und ausreichende Auflösung ist ein Zusatz von mindestens 5 mmol/L TEMED oder 2 mmol/L DETA einzusetzen. Eine Erhöhung der Konzentration an kationischem Tensid-Zusatz führte zu kürzeren Migrationszeiten, geringeren EOF-Störungen und somit robusteren Trennsystemen. Bei Systemen mit Methanol- oder Propanol-Zusatz treten bei Thiosulfat-Überschuss im Vergleich zu Proben mit gleichförmig niedriger Konzentration deutliche Basislinienstörungen auf.



Tab. 20: Beispiele für das Trennverhalten der Ionen im unteren ppm-Bereich ( $n = 3$ ) – PMA/TEMED - System, Quarzkapillare.

Trennsystem:	Thiosulfat $t_m$ in min  s in min VK in %	Trithionat $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Thio-}}$ s in min VK in %	Sulfat $t_m$ in min $\alpha_{\text{Trith}}$ s in min VK in %	Sulfid $t_m$ in min $\alpha_{\text{Sulfat}}$ s in min VK in	Tetrathionat $t_m$ in min $\alpha_{\text{Sulfid.}}$ s in min VK in %	Sulfit $t_m$ in min $\alpha_{\text{Tetra}}$ s in min VK in %
PMA 6 mmol/L, TEMED 9 mmol/L, 10 % n-Propanol (v/v), pH 8,0, 441 V/cm, 20 °C	9,705  0,135 1,39	9,811 1,01 0,107 1,09	11,050 1,13 0,274 2,48	15,090 1,33 0,054 0,36	15,602 1,03 0,237 1,52	19,995 1,28 0,500 2,50
PMA 6 mmol/L, TEMED 9 mmol/L, 20 % Methanol (v/v), pH 8,5, 448 V/cm, 20 °C	7,380  0,095 1,29	8,513 1,15 0,118 1,39	9,710 1,14 0,114 1,17	10,474 1,08 0,109 1,04	11,149 1,06 0,089 0,80	16,647 1,49 0,129 0,78
PMA 6 mmol/L, TEMED 5 mmol/L, pH 8,5, 448 V/cm, 25 °C	6,288  0,053 0,84	7,649 1,22 0,053 0,69	7,757 1,01 0,038 0,50	8,970 1,16 1,25 1,51	10,810 1,39 0,141 1,30	11,798 1,09 0,188 1,60

Eine vollständige Trennung aller relevanten Ionen bei annähernd gleichförmigen Konzentrationen ist bei  $\text{pH} \geq 7$ , PMA-Konzentrationen  $> 3$  mmol/L sowie TEMED-Konzentrationen  $\geq 5$  mmol/L möglich. Eine bessere Reproduzierbarkeit wurde bei TEMED-Konzentrationen von 10 mmol/L erreicht. Durch Lösungsmittelzusatz wurde die Auflösung teilweise verbessert.

Unter Berücksichtigung der Selektivitätsfaktoren wird deutlich, dass bei Erhöhungen der Analytkonzentration eine Basislinientrennung zunehmend erschwert wird, da die Peakbreite zunimmt und somit die Auflösung abnimmt. Bei den meisten Trennsystemen überschneiden sich die Intervalle der 2s-Bereiche der mittleren Migrationszeiten von Thiosulfat, Sulfat und Trithionat, wodurch sich die Selektivität verringert. In anderen Fällen liegt der VK der Migrationszeiten bei  $> 2$  %, wodurch auch die Reproduzierbarkeit der Peakflächen abnimmt.

Bei Zusatz von DETA als EOF-Modifikator sind bei pH-Werten von 7 bis 9,5 bereits mit Konzentrationen von 3 mmol/L PMA und 2 mmol/L DETA gute Trennergebnisse zu erzielen. Die Selektivitätsfaktoren von Trithionat – Sulfat, Thiosulfat - Trithionat und / oder Tetrathionat – Sulfit fallen am niedrigsten aus. Mit der Erhöhung des pH-Wertes erhöhen sich die Migrationszeiten. Bei Thiosulfat-Überschuss gelang jedoch bei neutralem pH-Wert eine reproduzierbarere Trennung von Thiosulfat, Trithionat und Sulfat.

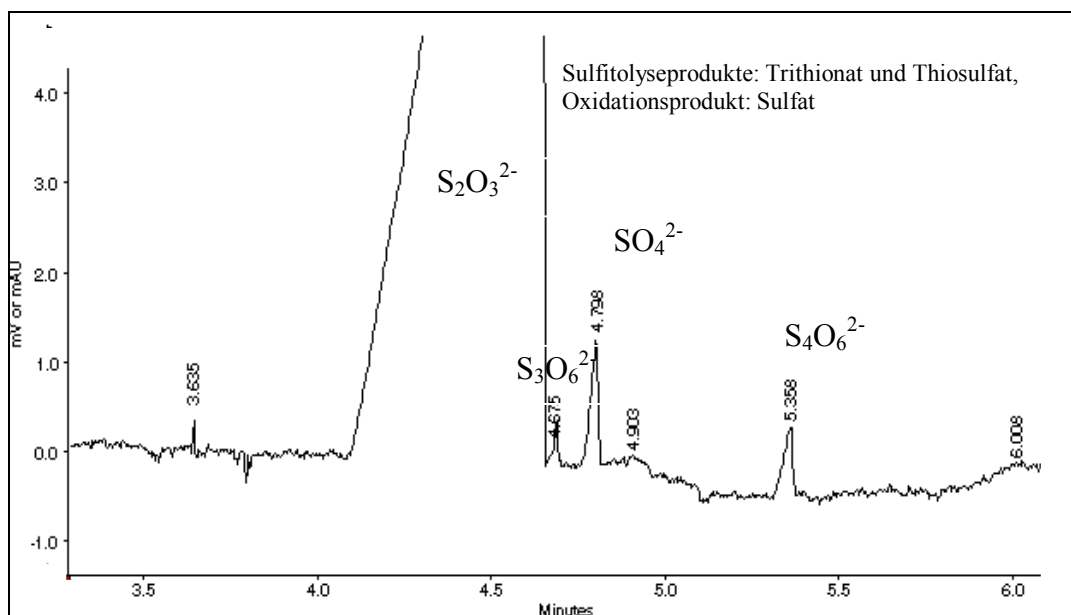


Abb. 66: Trennsystem: PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L, pH 7,3, -30 kV, 30 °C, Kapillare 70 cm / 75 µm Quarz, Injektion 6 sec hydrodynamisch, Probe: Natriumthiosulfat-Pentahydrat 10 g / 100 mL mit je 400 µg/mL Sulfit und Tetrathionat dotiert und 1 : 200 verdünnt,

Bei niedrigen Temperaturen wurde eine bessere Trennung von Thiosulfat, Trithionat, Sulfat und Tetrathionat erreicht, auch bei verringerter Auflösung auf Grund höherer Konzentrationen (mittlerer ppm-Bereich). Speziell die Auflösung von Trithionat und Sulfat verbessert sich bei abnehmender Temperatur. Bei höheren Temperaturen war eine Trennung dieser Ionen nicht möglich, jedoch gelang die Trennung von Polysulfiden unterschiedlicher Kettenlänge bei guter Peakform (s.u.). Eine befriedigende Bestimmung höherer Polythionate gelang mit der indirekten Detektion nicht.

Sulfid konnte ebenfalls von Tetrathionat getrennt werden und migriert z. B. bei pH 9 und niedriger Feldstärke (333 V/cm) zwischen Sulfat und Tetrathionat mit Selektivitätsfaktoren von  $\alpha = 1,07$  (Sulfid / Sulfat) bzw.  $\alpha = 1,09$  (Tetrathionat / Sulfid).

Bei Methanolzusatz verringert sich die Reproduzierbarkeit.

Tab. 21: Beispiele für das Trennverhalten der Ionen im unteren ppm-Bereich (n = 3) – PMA/DETA - System, Quarzkapillare.

Trennsystem:	Thiosulfat $t_m$ in min $s$ in min VK in %	Trithionat $t_m$ in min; $\alpha_{Thio-}$ $s$ in min VK in %	Sulfat $t_m$ in min $\alpha_{Trith}$ $s$ in min VK in %	Tetrathionat $t_m$ in min $\alpha_{Sulfat.}$ $s$ in min VK in %	Sulfit $t_m$ in min $\alpha_{Tetra}$ $s$ in min VK in %
PMA 3 mmol/L, DETA 2 mmol/L, pH 7,3, 429 V/cm, 30 °C, d = 75 $\mu$ m	4,590 0,045 0,97	4,885 1,06 0,021 0,42	5,033 1,03 0,038 0,76	5,626 1,12 0,008 0,13	7,600 1,35 0,081 1,06
PMA 3 mmol/L, DETA 2 mmol/L, pH 9,3, 333 V/cm, 20 °C, d = 50 $\mu$ m	5,55 0,086 1,55	6,08 1,09 0,128 2,11	6,24 1,03 0,107 1,72	7,41 1,09 0,076 1,02	7,63 1,03 0,052 0,68
PMA 3 mmol/L, DETA 2 mmol/L, Methanol 20 % pH 9,7, 697 V/cm, 30 °C	2,39 0,069 2,88	2,59 1,09 0,067 2,57	2,84 1,10 0,031 1,08	3,59 1,26 0,038 1,05	3,75 1,05 0,034 0,91

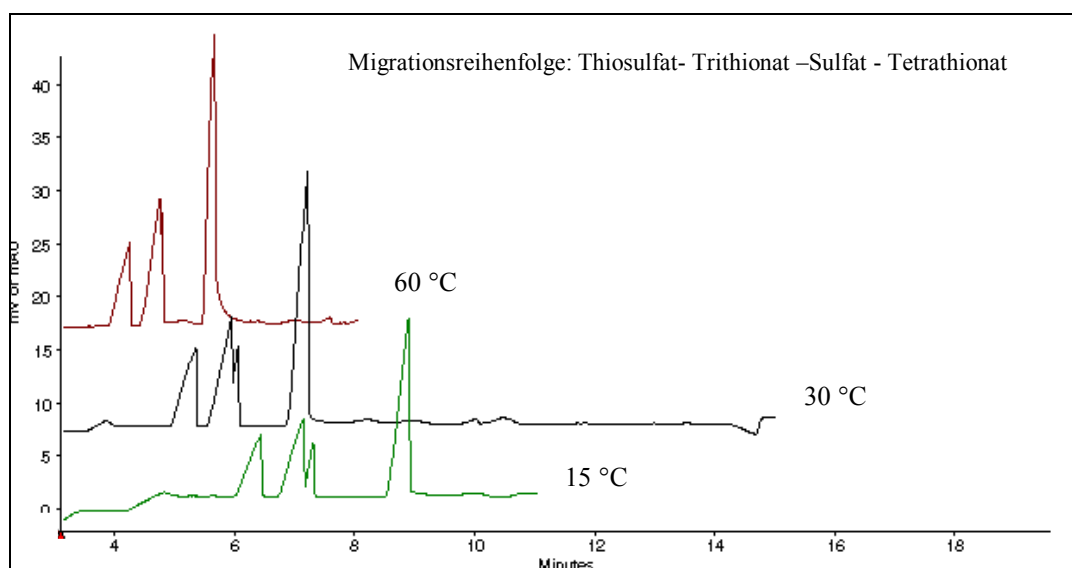


Abb. 67: Trennbedingungen: PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L, pH 9,73, -10 kV, Injektion 2 sec. hydrodynamisch, indirekte Detektion 254 nm, Probe: 350  $\mu$ g/mL Tetrathionat und 310  $\mu$ g/mL Sulfit (Sulfit nicht mehr detektierbar) mit Abbau zu Thiosulfat, Sulfat und Trithionat.

Eine Stabilisierung von Sulfit durch einen Formaldehyd-Zusatz zum BGA zur Sulfitbestimmung ist ungeeignet, da es zu einer Deformation des Sulfit-Signals kommt. Der Sulfat-Peak wurde nicht davon beeinflusst. Ein Zusatz von Methanol zur Probe und eine Begasung mit Stickstoff sind geeignet, um einen schnellen Abbau von Sulfit zu Sulfat innerhalb von 12 h zu verhindern, ohne störende Einflüsse auf das Sulfit-Signal. Nach 24 h waren bei 15 % Methanol-Zusatz (v/v) etwa 1/5 der Sulfitkonzentration zu Sulfat abgebaut.

Es wurden verschiedene anorganische und organische Anionen auf ihre Eignung als interner Standard untersucht. Chlorid, Bromid, Nitrat und Nitrit besitzen ähnliche Mobilitäten wie Thiosulfat, Trithionat und Sulfat und waren daher ungeeignet. Lactat und Tartrat interferieren mit Tetrathionat, Sulfit und Sulfid. Citrat, Acetat und Glycolat besitzen zu geringe Mobilität und migrieren deutlich langsamer. Der Fluorid-Peak wird durch eine häufig in diesem Bereich auftretende Baselinienstörung bei Thiosulfat-Überschuss beeinflusst. Oxalat migriert zwischen Sulfat und Tetrathionat und wurde in Trennsystemen mit DETA von den relevanten Ionen getrennt. Die erreichte Auflösung entspricht einer grenzgängigen Basislinientrennung, besonders bei Thiosulfat-Überschuss. Die Ansätze wurden deshalb nicht weiter verfolgt.

Bei Untersuchungen zur Standardaddition von Sulfit wurde beobachtet, dass sich in den Injektionslösungen bei Sulfit-Dotierung ein Trithionat-Peak ausbildete. Es war keine reproduzierbare Linearität der Signalhöhe und der dotierten Sulfit-Konzentrationen gegeben. Da Injektionslösungen meist Tetrathionat als Zersetzungsprodukt enthalten, erfolgt bei Zugabe von Sulfit ein Abbau zu Thiosulfat und Trithionat. Eine Bestimmung über Standardaddition ist aus diesem Grund nicht möglich. Entsprechendes gilt für die Standardaddition von Polythionaten bzw. Sulfid. Hier erfolgt ein Abbau durch Sulfit und / oder Sulfid bzw. durch Polythionate.

Eine Störung durch Phosphat als häufigster Bestandteil der Injektionslösungen tritt nicht auf, da sich die Mobilität deutlich von schwefelhaltigen Ionen der Injektionslösungen unterscheidet. Eine Beispiel-Kalibrierung für eine quantitative Bestimmung von Phosphat in Natriumthiosulfat-Lösungen erfolgte für eine Verdünnung der Injektionslösungen von 1:50. Es wurde der Bereich von 5 bis 200 µg/mL, berechnet als Hydrogenphosphat, neben entsprechender Thiosulfat-Konzentration als Dreifachbestimmung kalibriert, da von 5 mg/mL bis 500 µg/mL Phosphat in den 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen ausgegangen wurde.

Der Achsenabschnitt ist nicht signifikant. Die relative Verfahrensstandardabweichung beträgt 7,0 %. Es besteht ein linearer, gut korrelierter Zusammenhang ( $r = 0,9969$ ).

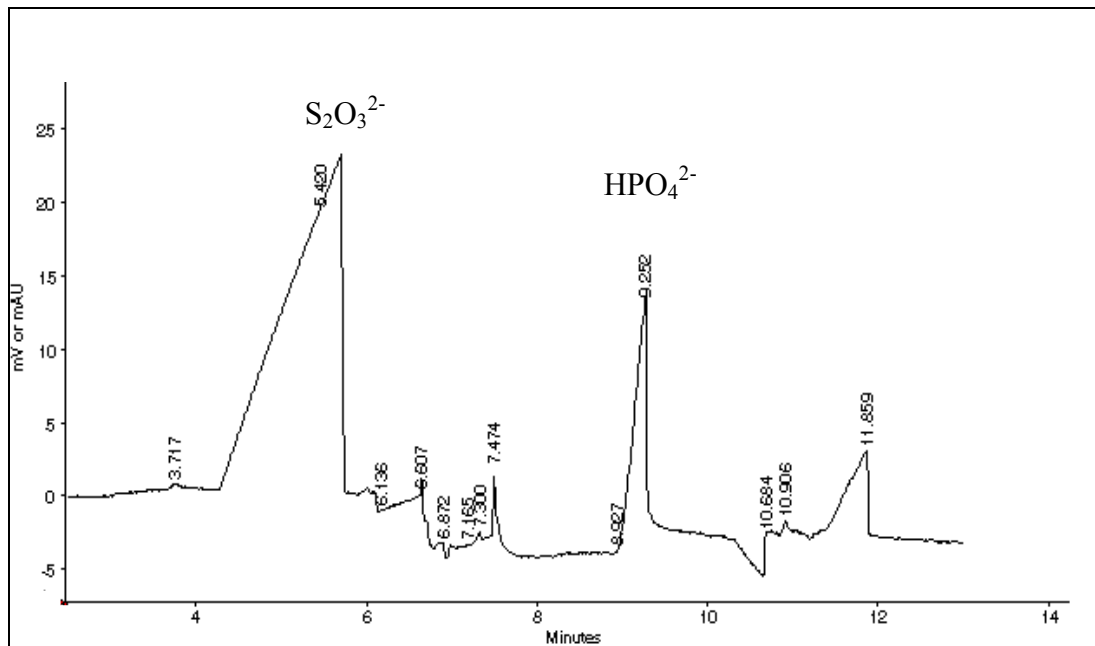


Abb. 68: Trennbedingungen: PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L, pH 9,3; -30 kV, 30 °C, Kapillare 70 cm / 75 µm Quarz, Inj. 6 sec hydrodynamisch, Probe: 2500 µg/mL Phosphat in Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL 1:50 verdünnt (Analytkonzentration 50 µg/mL Phosphat).

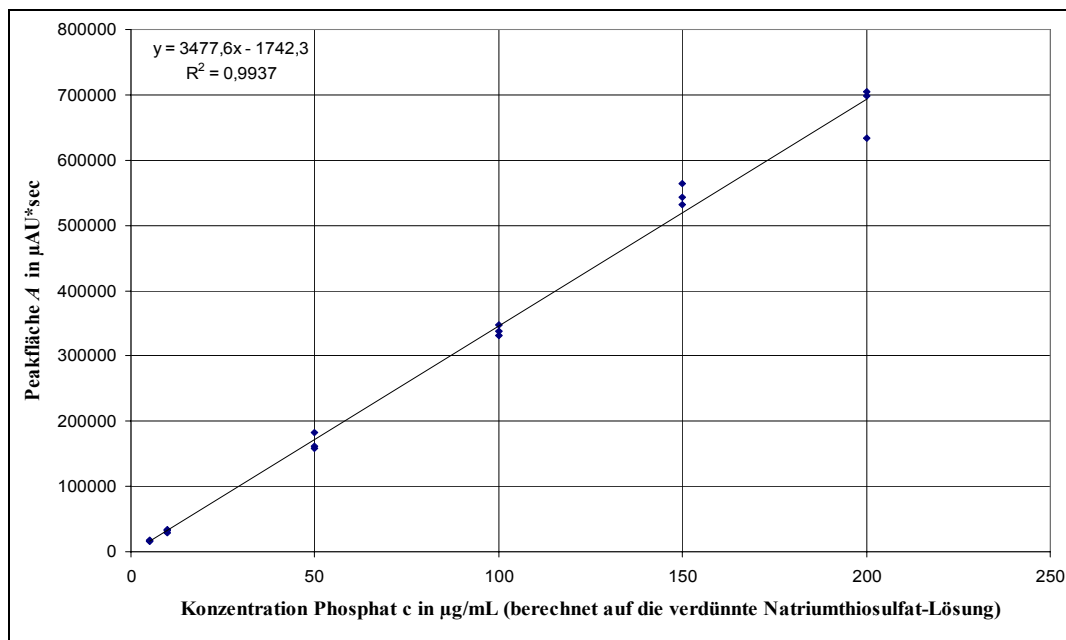


Abb. 69: Kapillarelektrophoretische Bestimmung von Phosphat in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen – Trennbedingungen: PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L pH 9,3; -30 kV, 30 °C, Detektion 214 nm indirekte Detektion, hydrodynamische Inj. 6 sec, Kapillare 75 µm / 70 cm Quarz.

Ein unter Umständen vorhandenes Signal von Chlorid, bedingt durch Chloridzusatz zu den Injektionslösungen, liegt bei geringer Verdünnung unter dem Signal von Thiosulfat. Hier ist eine simultane Bestimmung durch CZE nicht möglich, da bei der notwendigen, stärkeren Verdünnung die Nachweisgrenze unterschritten wird. Thiosulfat selbst kann dann bei entsprechender Verdünnung quantifiziert werden.

Die Beispiel-Kalibrierung wurde mit einer entsprechenden Verdünnungsreihe, hergestellt aus einer 10000 µg/mL Thiosulfat-Stammlösung durchgeführt. Der Bereich der Kalibrierung wurde im Beispiel von 20 µg/mL bis 150 µg/mL gewählt. Bei einer 1 : 500 Verdünnung einer 10 %igen Injektionslösung liegt der Erwartungswert im Schwerpunkt der Kalibrierung (ca. 90 µg/mL). Der lineare Zusammenhang besteht jedoch auch für Konzentrationen bis 300 µg/mL. Es erfolgte eine Stabilisierung mit 15 % MeOH. Die ermittelte relative Verfahrensstandardabweichung beträgt 4,4 %. Der Achsenabschnitt ist hier signifikant. Es besteht ein linearer, gut korrelierter Zusammenhang ( $r = 0,9966$ ).

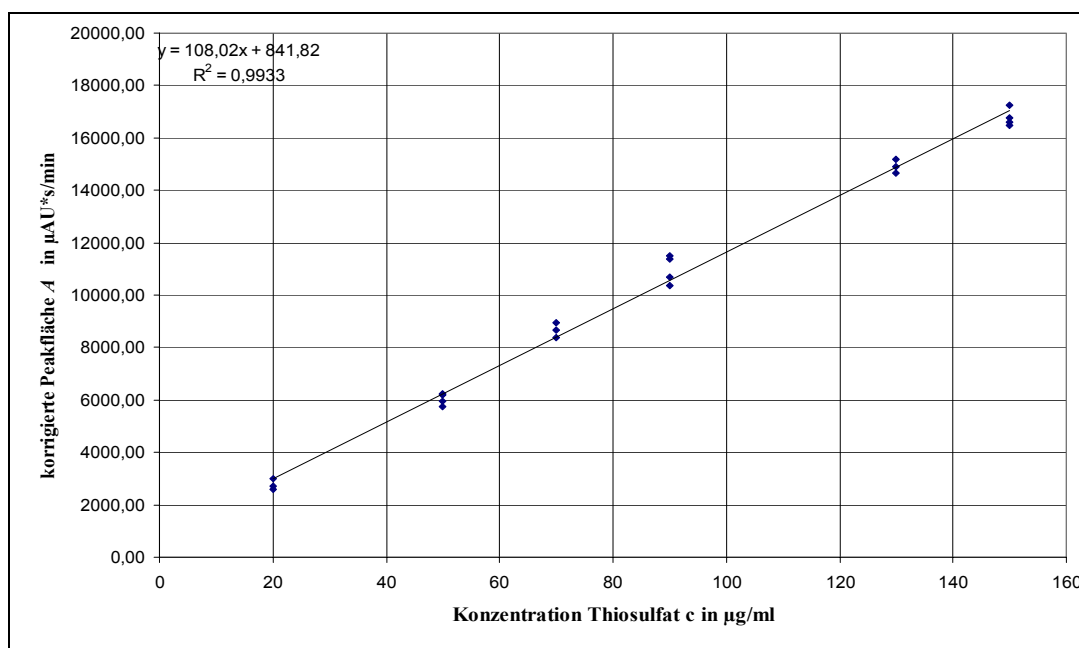


Abb. 70: Kalibrierung Thiosulfat – Trennbedingungen: PMA/DETA 3mmol/L / 2mmol/L, pH 9,3; -30 kV, 30 °C, hydrodynamische Inj. 4 sec., indirekte Detektion 214 nm Kapillare 70 cm / 75 µm Quarz.

Die aus vermessenen Verdünnungsreihen abgeschätzte Nachweisgrenze für Sulfit<sup>3</sup> ohne Thiosulfat-Matrix beträgt 10 µg/mL bei pH 9 und Stabilisierung mit 20 % Methanol (v/v). 7,5 µg/mL konnten nicht mehr detektiert werden. In einer 1:10 verdünnten Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL waren 50 µg/mL Sulfit noch gut zu erfassen. Bei niedrigeren Konzentrationen bis zur NWG von ca. 20 µg/mL sank die Reproduzierbarkeit der Bestimmung drastisch unter Verlust des linearen Zusammenhangs. Bei einer 1 : 100 Verdünnung lag die NWG bei etwa 10 µg/mL. Somit sind erst Sulfit-Konzentrationen von 0,5 bis 1 mg/mL, bezogen auf die unverdünnten Injektionslösungen, nachweisbar. Die Bestimmungsgrenze liegt entsprechend höher.

Für die kapillarelektrophoretische Bestimmung ist die Injektionsdauer von Bedeutung. Hier muss, soweit möglich, ein Kompromiss zwischen einer Peakverbreiterung einhergehend mit einer Überladung bei längeren Injektionszeiten und der notwendigen Überschreitung der Nachweisgrenze des zu bestimmenden Ions gefunden werden. Für Sulfit konnte bei Einsatz der elektrokinetischen Injektion (4 sec, 10 kV) ohne Thiosulfat-Matrix die Nachweisgrenze auf etwa 2 µg/mL gesenkt werden. Neben Thiosulfat-Überschuss erfolgt bei elektrokinetischer Injektion eine Diskriminierung der weniger mobilen Ionen, so dass hier vor Erreichen einer akzeptablen Nachweisgrenze eine Überladung eintritt. Dehnt man die Injektionsdauer auf 10 sec bei 10 kV aus, können noch 5 µg/mL Sulfit neben einer 1 : 10 verdünnten 10 %igen Natriumthiosulfat-Lösung detektiert werden. Bei Verdünnung 1 : 100 wurde noch bei 0,8 µg/mL Sulfit ein Signal detektiert. Durch die Überladung kommt es zu Basislinienstörungen, die eine Basislinienfestsetzung für die quantitative Auswertung eines Sulfit-Peaks erschweren. Sulfat und Trithionat liegen bei diesen Injektionszeiten unter dem Thiosulfat-Peak.

Bei hydrodynamischer Injektion liegt die Nachweisgrenze neben Thiosulfat-Überschuss im Vergleich zur thiosulfatfreien Matrix ebenfalls höher. Da in den unverdünnten Injektionslösungen von maximalen Sulfit-Konzentrationen um 50 µg/mL ausgegangen werden kann, sind die erreichbaren Nachweisgrenzen für eine Sulfitbestimmung zu hoch. Versuche mit Realproben (sulfithaltiges Handelspräparat 1 : 100 verdünnt) und verlängerten Injektionszeiten (bis zu 12 sec) bestätigten, dass die notwendige Nachweisgrenze nicht erreicht wurde. Es konnte kein Sulfit-Peak detektiert werden. Nach Dotierung der verdünnten Lösung mit 1 µg/mL Sulfit wurde ein Signal detektiert.

---

<sup>3</sup> Kriterium NWG hier: signifikanter Unterschied vom Grundrauschen  $h$  für ein Signal-Rausch-Verhältnis ( $S/N$ ) von 3, erforderliche Signalthöhe  $H$  liegt zwischen 100 µAU und 150 µAU bei  $S/N = 2H/h$ .

Durch die Überladung wird bei höherer Thiosulfat-Konzentration die Peakbasis breiter und besonders die Signale von Trithionat und Sulfat werden in Auflösung und Nachweisgrenze negativ beeinflusst. 5 µg/mL Sulfat treten bei einer 1 : 100 Verdünnung nur als Schulter am Thiosulfat-Peak auf. Erst höhere Verdünnungen ermöglichen hier eine Basislinientrennung. Des Weiteren kommt es zu Verschiebungen der Migrationszeiten. Eine eindeutige Identifizierung ist nur durch Dotierung möglich.

Für Tetrathionat liegt die Nachweisgrenze bei 1 : 100 Verdünnung der 10 %igen Natriumthiosulfat-Lösung bei 6 µg/mL, für Trithionat und Sulfid bei etwa 10 µg/mL. In den Injektionslösungen konnte in Einzelfällen Trithionat oberhalb der Nachweisgrenze identifiziert werden. Tetrathionat und Sulfid waren nicht nachweisbar.

Für Sulfat liegt die erreichte Nachweisgrenze bei einer 1 : 100 Verdünnung der Natriumthiosulfat-Injektionslösung mit etwa 1,5 µg/mL um etwa eine Zehnerpotenz niedriger. Sie wird von der fehlenden Eigenabsorption und den somit größeren Absorptionsunterschied günstig beeinflusst. Des Weiteren unterliegt Sulfat keinen Abbaumechanismen durch Sauerstoff oder schwefelhaltige Spezies.

Bei Einsatz der CElectAmine® Kapillare mit PMA, TEMED und Propanol-Zusatz gelang bei Injektion von frischen Polysulfid-Lösungen eine Trennung von Signalen, die als Polysulfide verschiedener Kettenlänge angesehen werden können. Die Signale sind relativ symmetrisch und fast basisliniengetrennt. Einige dieser Signale lassen sich auch bei hochkonzentrierten Sulfidlösungen als Nebenpeak beobachten. Bei Einsatz von Quarzkapillaren und anderen Trennsystemen waren die Signale deformiert und geringer aufgelöst. Bei Erhöhung der Temperatur und Verringerung der Feldstärke kam es zu einer Abnahme der Selektivitätsfaktoren der Polysulfide bei kürzeren Migrationszeiten und besserer Peakform. Sulfid wird hier nicht mehr von den kurzkettigen Polysulfiden getrennt.

Tab. 22: Trennverhalten der Ionen – Trennbedingungen: -30 kV, 20 °C, ind. Detektion 250 nm; PMA/TEMED/MeOH 6 mmol/L / 10 mmol/L / 20 %, pH 8,04; Kapillare CElect®Amine 42 cm / 50 µm.

Parameter	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	$\text{S}_3\text{O}_6^{2-}$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{HS}^-$	$\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$	$\text{S}_2^{2-} (?)$	$\text{SO}_3^{2-}$
tm in min	6,194	6,668	6,817	7,596	7,908	8,455	8,843
s in min (n = 3)	0,103	0,069	0,069	0,041	0,068	0,074	0,056
VK in %	1,67	1,03	1,01	0,54	0,86	0,87	0,64
$\alpha$		1,077	1,022	1,114	1,041	1,069	1,046



Tab. 23: Trennverhalten der Polysulfide (Kettenlängen unter Vorbehalt) – Kapillare CElect®Amine, PMA/TEMED/MeOH 6 mmol/L / 10 mmol/L / 20 % (v/v), pH 8,04; ind. Detektion 250 nm a) -30 kV (714 V/cm), 20 °C, Kapillare 42 cm / 50 µm; b) -30 kV (417 V/cm), 35 °C Kapillare 72 cm / 50 µm.

Parameter	HS <sup>-</sup>	S <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	S <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	S <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	S <sub>5</sub> <sup>2-</sup>	S <sub>6</sub> <sup>2-</sup>
t <sub>m</sub> <sup>a)</sup> in min	7,596	8,455	10,660	11,470	12,856	14,543
s <sup>a)</sup> in min (n = 3)	0,041	0,074	0,165	0,119	0,165	0,118
VK <sup>a)</sup> in %	0,54	0,87	1,55	1,04	1,29	0,81
α <sup>a)</sup>	--	1,046	1,261	1,076	1,121	1,131
t <sub>m</sub> <sup>b)</sup> in min	7,473	9,029	9,362 <sup>*)</sup>	9,812	10,288	10,945
α <sup>b)</sup>	--	1,21	1,04	1,05	1,05	1,06

\*) bei Trennbedingungen wie unter b) erfolgt hier keine Trennung des Signals von Sulfit

Bei Alterung der verdünnten Polysulfid-Lösungen kann man Abbau und Umbau der Polysulfide verfolgen. Geht man in der Signalreihenfolge von einer homologen Reihe aus, so sind in frischen Lösungen vorrangig S<sub>4</sub><sup>2-</sup> neben S<sub>3</sub><sup>2-</sup>, S<sub>5</sub><sup>2-</sup> und Sulfit vorhanden.

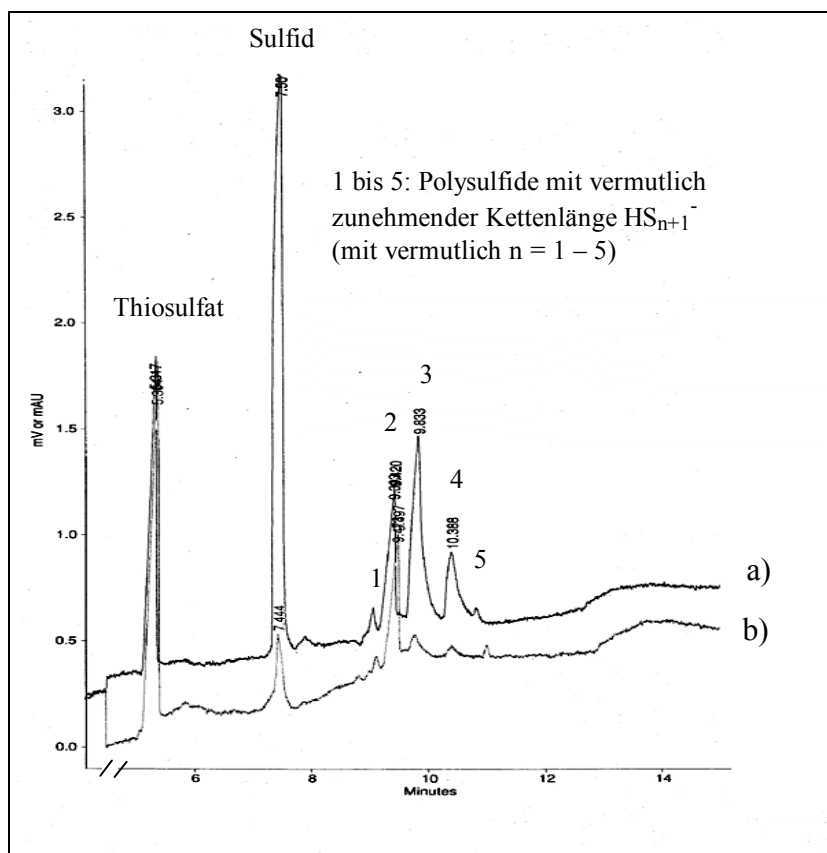


Abb. 71: Alterung von Polysulfid-Lösung - Trennbedingungen: -30kV, 35°C, indirekte Detektion 250 nm; PMA/TEMED/MeOH 6 mmol/L / 10 mmol/L / 20 % (v/v), pH 8,04; Kapillare 72 cm / 50 µm CElect®Amine Proben: Polysulfid-Lösung 1,6:100 verdünnt a) frisch; b) nach 120 min.

Es bilden sich bei Alterung vermutlich vorrangig  $S_3^{2-}$  und  $S_4^{2-}$ . Nach 24 h wurde  $S_5^{2-}$  neben  $S_4^{2-}$  und auch  $S_2^{2-}$  detektiert. Nach 96 h wurde unter Annahme der postulierten Kettenlängen hauptsächlich  $S_5^{2-}$  mit wenig  $S_2^{2-}$  gefunden.

Der Alterungsprozess geht mit einer Entfärbung der Lösung und Schwefelabscheidung einher. Es wurden keine wesentlichen Unterschiede im Spektrum der Polysulfide bei Herstellung von definierten Polysulfidlösungen durch stöchiometrische Umsetzung von Schwefel mit Sulfid entsprechend der gewünschten Kettenlänge festgestellt. In frischen Sulfidlösungen wurden neben Sulfit zunächst Spuren fast aller Spezies detektiert. Beim Alterungsprozess scheint sich hier vorrangig  $S_5^{2-}$  zu bilden.

Tab. 24: Abbau der Polysulfide in wässriger Sulfid- bzw. Polysulfidlösung bei Alterung unter Annahme einer Peakreihenfolge entsprechend einer homologen Reihe der Kettenlänge.

Vermutete Spezies:	$S_2^{2-}$	$SO_3^{2-} / S_3^{2-}$	$S_4^{2-}$	$S_5^{2-}$	$S_6^{2-}$
Peak:	1	2	3	4	5
in frischer Sulfidlösung	nicht nachweisbar	in Spuren	in Spuren	in Spuren	in Spuren
bei Alterung von Sulfid-Lösungen nach 24 h und 96 h	nicht nachweisbar	Abbau bis nicht mehr nachweisbar	konstant bei Alterung	Hauptkomponente	in Spuren
frische Polysulfidlösung	in Spuren	2.Nebenkomponente	Hauptkomponente	3.Nebenkomponente	in Spuren
nach 2 h Alterung	in Spuren	Hauptkomponente	2.Nebenkomponente	in Spuren	in Spuren
nach 24 h Alterung	3.Nebenkomponente	in Spuren	2.Nebenkomponente	Hauptkomponente	in Spuren
nach 96 h Alterung	2.Nebenkomponente	nicht nachweisbar	nicht nachweisbar	Hauptkomponente	nicht nachweisbar
bei Alterung der Polysulfid-Lösung	Zunahme Thiosulfat und Sulfat, kompletter Abbau von Sulfid und Sulfit				

***Sonstige Trennsysteme (indirekte Detektion)***

Neben den für die Trennung von anorganischen Anionen üblichen Hintergrundelektrolyten wurden des Weiteren Molybdat, Ascorbinsäure, Trimesinsäure, Phthalat, Naphthalintetracarbonsäure und Naphthalindi- und Naphthalintrisulfonsäure auf ihre Eignung in Kombination mit verschiedenen Zusätzen untersucht. Es wurde Borsäure zugesetzt, um den pH-Wert einstellen zu können und die Ionenstärke heraufzusetzen. Im Wesentlichen waren bei allen Trennsystemen die Auflösung gut, jedoch die Robustheit zu gering und die Reproduzierbarkeit ungenügend. Besonders auffällig waren hier starke Störungen des Basislinienverlaufs und positive als auch negative Systempeaks in der Nähe der zu bestimmenden Ionen, meist zwischen Thiosulfat und Sulfat. Die stärksten Störungen durch Basislinienfluktuation und Systempeaks wurden bei Naphthalintetracarbonsäure beobachtet. Bei Ascorbinsäure wurde ein Verlust an Trennqualität und Auswertbarkeit durch ein starkes Grundrauschen festgestellt. Des Weiteren werden Sulfit, Sulfid und Tetrathionat nicht getrennt. Naphthalindisulfonsäure, Phthalsäure und Trimesinsäure zeigten ebenfalls sehr starke Basislinienfluktuation und teilweise schlechte Peaksymmetrie.

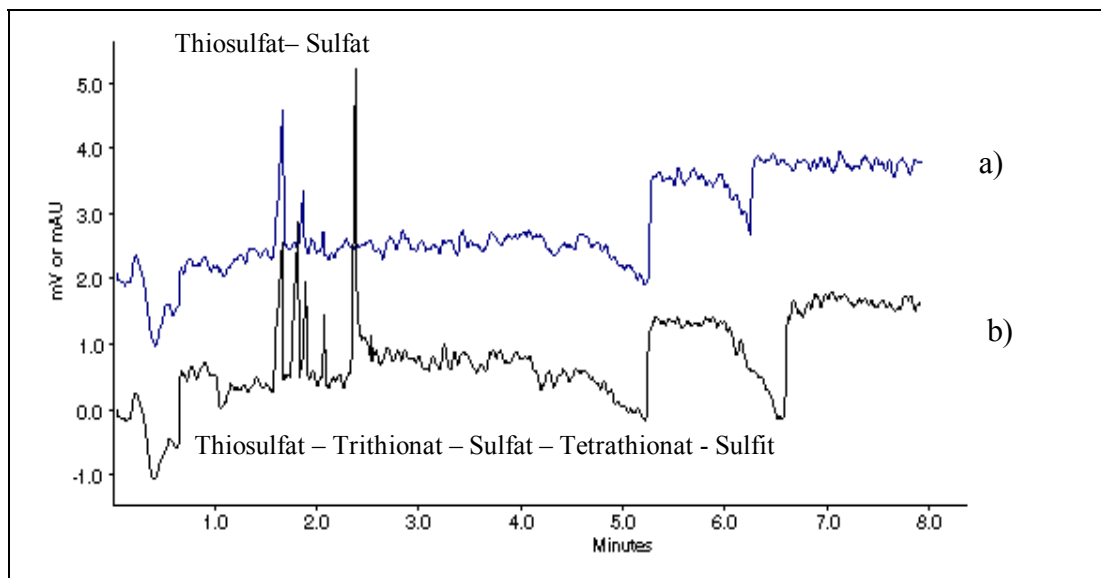


Abb. 72: Trennbedingungen: Naphthalintrisulfonsäure 5 mmol/L, DETA 2 mmol/L Borsäure 100 mmol/L, pH 8,0, MeOH 2 % (v/v), -30 kV, 35 °C, ind. Detektion  $\lambda = 284$  nm; Kapillare 42 cm / 50  $\mu$ m Quarz; Inj. 4 sec., Probe: a) Thiosulfat 250  $\mu$ g/mL und Sulfat 50  $\mu$ g/mL, b) Tetrathionat und Sulfit je 470  $\mu$ g/mL abgebaut zu Sulfat, Thiosulfat und Trithionat.

Tab. 25: ausgewählte Beispiele für das Trennverhalten der Ionen – diverse Systeme indirekter Detektion.

Trennsystem: (anodischer Modus, 35 °C)	Thiosulfat $t_m$ in min	Sulfat $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Thio.}}$	Tetrathionat $t_m$ in min $\alpha_{\text{Sulfat}}$	Sulfit $t_m$ in min $\alpha_{\text{Tetrat}} (\alpha_{\text{Sulfat}})$	Sulfid $t_m$ in min $\alpha_{\text{Tetra}}$
Quarz, NTSS 5 mmol/L, DETA 2 mmol/L Borsäure 100 mmol/L, pH 8,0, MeOH 2 %, 714 V/cm,	1,69	1,87	2,09	2,39	3,20
	--	1,11	1,12	1,14 (1,28)	1,34
Quarz, NTSS 5 mmol/L, TEMED 10 mmol/L, , pH 8,1, Borsäure 100 mmol/L, MeOH 2 %, 714 V/cm,	2,64	3,20	4,34	n. d.	n. d.
	--	1,21	1,36	--	--
Quarz, NTCS 5 mmol/L, TEMED 10 mmol/L, pH 8,2, Borsäure 100 mmol/L, MeOH 2 %, 714 V/cm,	3,16	3,85	5,25	n. d.	n. d.
	--	1,22	1,36	--	--
Quarz, NTCS 5 mmol/L, DETA 2 mmol/L, Borsäure 100 mmol/L, pH 8,2, MeOH 2 %, 714 V/cm,	2,91	3,23	4,17	n. d.	n. d.
	--	1,11	1,29	--	--
Molybdat 5 mmol/L, TEMED 10 mmol, n-Propanol 10 %, MeOH 2 %, pH 8,6, 416 V/cm;	5,13	5,92	6,90 *)	n. d.	n. d.
	--	1,15	1,17	--	--
Quarz, Ascorbinsr. 50 mmol/L, TEMED 10 mmol/L, pH 7,9, Borsäure 100 mmol/L; n-Propanol 10 %, 416 V/cm;	2,96	3,47	4,49	4,53	4,46
	--	1,17	1,29	1,01 (1,31)	1,00

\*) negatives Signal, nur bei 214 nm detektierbar; n. d. = nicht detektiert

Die Beeinflussung von Peakform, Auflösung und Retentionszeiten bei bereits geringem Thiosulfat-Überschuss wird in der Abbildung 75 deutlich. Im Beispiel liegt ein Verhältnis Thiosulfat:Sulfat von 4,5 : 1 vor. Mit abnehmender Verdünnung verschieben sich die Migrationszeiten. Die Auflösung verschlechtert sich mit steigender Konzentration. Die Signale sind ab einer Verdünnung von 1 : 20 nicht mehr basislinien-getrennt.

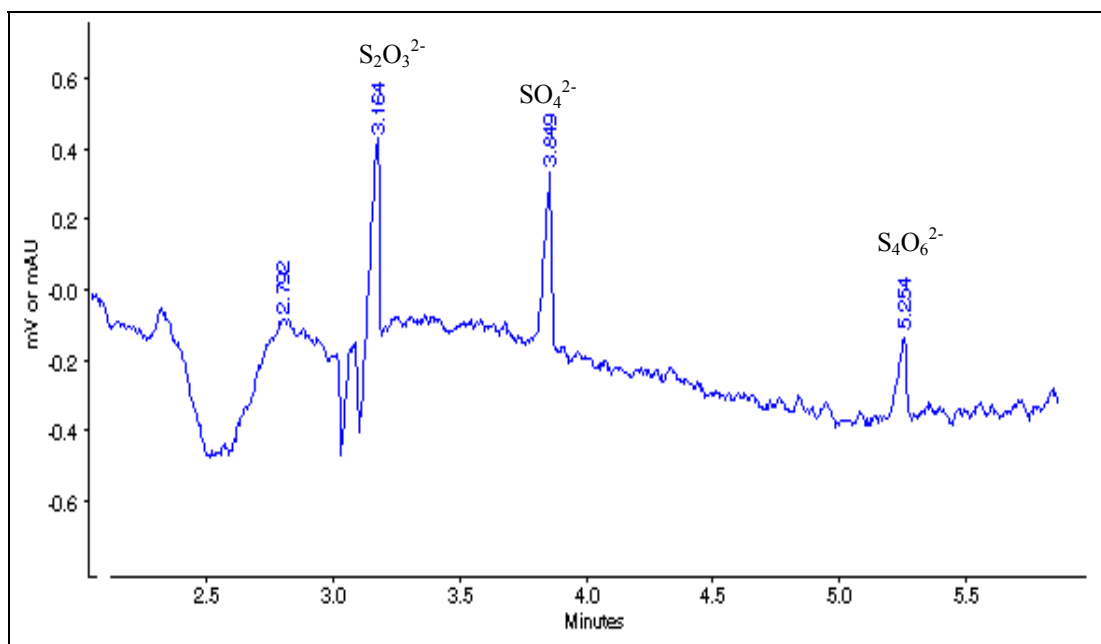


Abb. 73: Trennelektrolyt: Naphthalintetracarbonsäure 5 mmol/L, TEMED 10 mmol/L, Borsäure 100 mmol/L, pH 8,2, MeOH 2 % (v/v), -30 kV, 35 °C, ind. Detektion  $\lambda = 237$  nm; Kapillare 42 cm / 50  $\mu$ m Quarz; Inj. 1 sec., Probe: Thiosulfat, Sulfat, Tetrathionat je 20  $\mu$ g/mL.

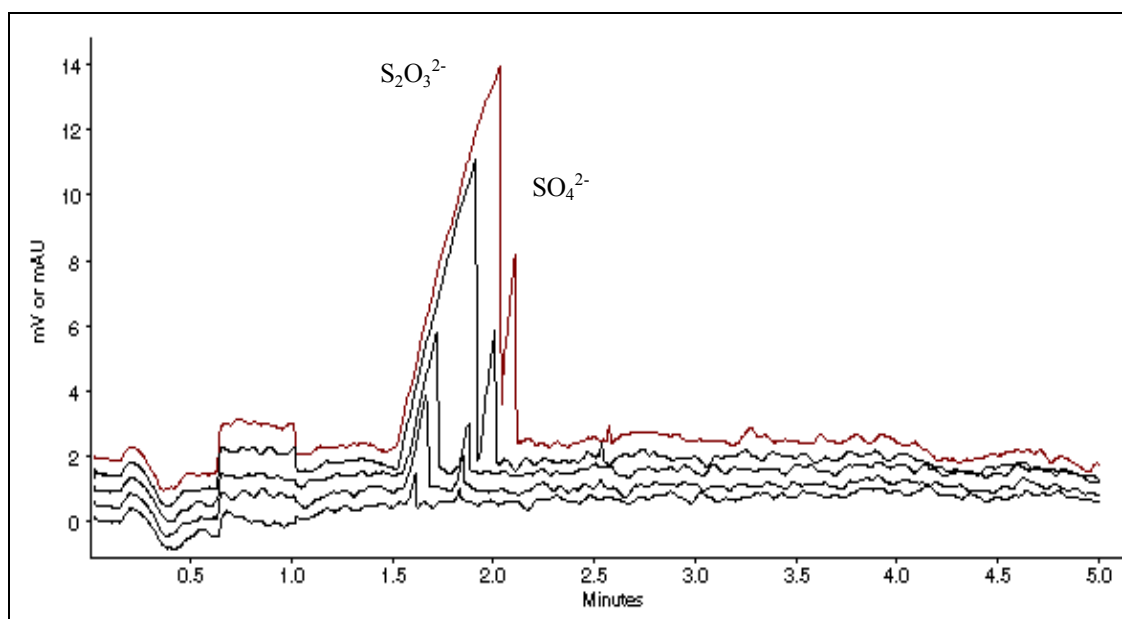


Abb. 74: Trennelektrolyt: Naphthalintrisulfonsäure 5 mmol/L, DETA 2 mmol/L Borsäure 100 mmol/L, pH 8,0, MeOH 2 % (v/v), -30 kV, 35 °C, ind. Detektion  $\lambda = 284$  nm; Kapillare 42 cm / 50  $\mu$ m Quarz; Inj. 4 sec., Proben: Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL ( $\approx 45000$   $\mu$ g/mL  $S_2O_3^{2-}$ ) mit 10000  $\mu$ g/mL Sulfat dotiert, in den Verdünnungsstufen 1 : 1000; 1 : 200; 1 : 100; 1 : 20; 1 : 10 (von vorn nach hinten).

Ein direkter Vergleich eines Molybdatbasierenden Trennsystems mit einem PMA-basierenden System, bei sonst gleicher Pufferzusammensetzung und identischen Trennbedingungen, zeigt, dass für Molybdat schmalere Peaks bei kürzeren Migrationszeiten erhalten werden.

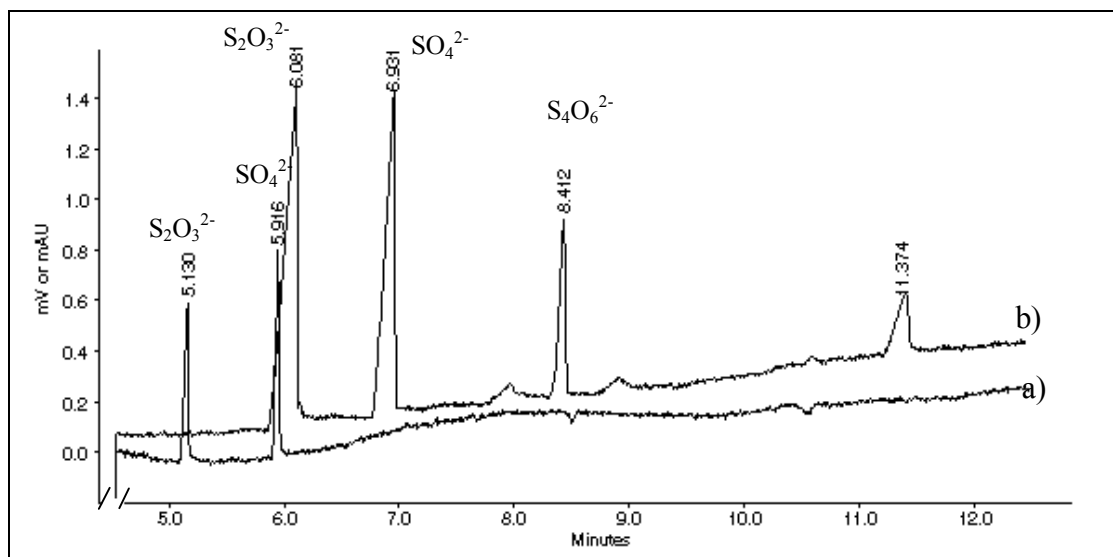


Abb. 75: Elektropherogramm mit direktem Vergleich von 2 Elektrolyten – Trennelektrolyt: a) Molybdat 5 mmol/L, TEMED 10 mmol/L, n-Propanol 10 % (v/v), MeOH 2 % (v/v), pH 8,6, -30 kV, 35 °C, b) PMA 6 mmol/L, TEMED 10 mmol/L, n-Propanol 10 % (v/v), MeOH 2 % (v/v), pH 8,6, -30 kV, 35 °C; ind. Detektion  $\lambda = 250$  nm; Kapillare 72 cm / 50  $\mu$ m CElect® Amine; Inj. 4 sec., Probe: Thiosulfat 360  $\mu$ g/mL, Sulfat und Tetrathionat je 80  $\mu$ g/mL.

Nachteilig wirkt sich hier wie schon bei Chromat der zu geringe Absorptionsunterschied zwischen dem Hintergrundelektrolyten und den Polythionaten auf deren Detektierbarkeit aus, so dass diese Ionen sich der Bestimmung entziehen. Auch für Thiosulfat und Sulfat fällt der geringere Absorptionsunterschied bereits ins Gewicht, was an der geringeren Signalthöhe zu erkennen ist. Dies limitiert die erreichbaren Nachweisgrenzen. Beim Molybdat-System treten Basislinienstörungen im Vergleich zum PMA-System ebenfalls häufiger auf.

### ***Trennsystem mit Phosphat (direkte Detektion)***

Trennsysteme mit direkter Detektion erwiesen sich als robuster im Vergleich zu Systemen mit indirekter Detektion. Basislinienstörungen, ausgeprägte Schwankungen im EOF sowie Systempeaks waren hier seltener zu beobachten. Nachteilig für den Einsatz bei der Bestimmung von anorganischen Ionen ist die fehlende Detektierbarkeit von z. B. Sulfat auf Grund fehlender Eigenabsorption.

Für Thiosulfat, Sulfit, Sulfid und die Polythionate sind die Absorptionskoeffizienten jedoch ausreichend, um noch eine Bestimmung im ppm-Bereich zu ermöglichen.

Obwohl bei niedriger Detektionswellenlänge ein höheres Grundrauschen auftrat, war der Nachweis von Ionen im unteren ppm-Bereich bis hin zum oberen ppb-Bereich möglich. Die detektierten Signale zeichnen sich, besonders im unteren Konzentrationsbereich, durch eine hohe Symmetrie und eine schmale Peakbasis aus. Bei Injektion einer Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL unverdünnt oder 1 : 1 verdünnt blieben größere Störungen des Basislinienverlaufs aus.

Tab. 26: ausgewählte Beispiele für das Trennverhalten der Ionen – Phosphatsystem.

Trennsystem:	Thiosulfat $t_m$ in min	Trithionat $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Thio}}$	Tetrathionat $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Trith}}$	Sulfit $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Tetra}}$	Sulfid $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Tetra}}$	Pentathionat $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Sulfid}}$	Hexathionat $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Penta}}$
Phosphat 50 mmol/L, pH 7,02, 357 V/cm, 20 °C, Quarz- kapillare 1 - 75 $\mu\text{m}$	2,24 --	2,37 1,06	2,58 1,09	2,89 1,12	3,27 1,13	3,72 1,14	4,56 1,23
Phosphat 50 mmol/L, pH 7,00, 357 V/cm, 25 °C, Quarz- kapillare 2 – 50 $\mu\text{m}$	2,64 --	--- --	4,23 --	--- --	--- --	5,85 --	9,50 1,62
Phosphat 50 mmol/L, DETA 2 mmol/L, pH 7,00, 400 V/cm, 35 °C, Quarz- kapillare 3 – 75 $\mu\text{m}$	5,91 --	6,33 1,07	10,10 1,59	10,96 1,09	--- --	13,77 --	27,99 2,03
	Thiosulfat $t_m$ in min	Sulfit $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Thio}}$	Sulfid $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Sulfit}}$	Polysulfid $\text{HS}_n^-$ $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Sulfid}}$	Polysulfid $\text{HS}_{n+x}^-$ $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Polys}}$	Polysulfid $\text{HS}_{n+y}^-$ $t_m$ in min; $\alpha_{\text{Polys}}$	
Phosphat 50 mmol/L, pH 7,02, 357 V/cm, 20 °C, Quarz- kapillare 1 – 75 $\mu\text{m}$	2,26 --	2,89 1,28	3,27 1,12	5,14 1,57	5,53 1,08	6,82 1,23	

Die Selektivitätsfaktoren sind vergleichbar mit den Ergebnissen der indirekten Detektion. Die Trennung von Trithionat und Thiosulfat gelingt jedoch im Vergleich besser. Sulfat stört hier auf Grund seiner fehlenden Absorption nicht. Es konnten alle Polythionate bis zum Hexathionat detektiert werden. Sulfid weist bei diesem Trennsystem einen deutlichen Selektivitätsunterschied zu Tetrathionat auf.

Es wurde wiederholt beobachtet, dass sich die Oberflächen verschiedener Chargen der Quarzkapillaren deutlich unterscheiden. Auffällig waren hier die deutlich längeren Migrationszeiten bei Kapillare 3, die auf einen starken Elektroosmotischen Fluss schließen lassen. Selbst bei Zusatz von DETA lagen die Zeiten noch deutlich über den anderen ermittelten Werten, besonders bei den höheren Polythionaten. Auch bei Kapillare 2 liegen die Werte trotz höherer Temperatur über denen der Kapillare 1.

In einer frisch verdünnten Polysulfidlösung wurden neben Sulfid, Sulfit und Thiosulfat auch Signale detektiert, die mit großer Wahrscheinlichkeit von Polysulfiden verschiedener Kettenlänge stammen. Die Signale können eindeutig von Polythionaten unterschieden werden. Im Alterungsprozess der Lösung ist der Abbau der Polysulfide zu Thiosulfat und Sulfit (mit Oxidation zu Sulfat, hier nicht detektierbar) zu beobachten.

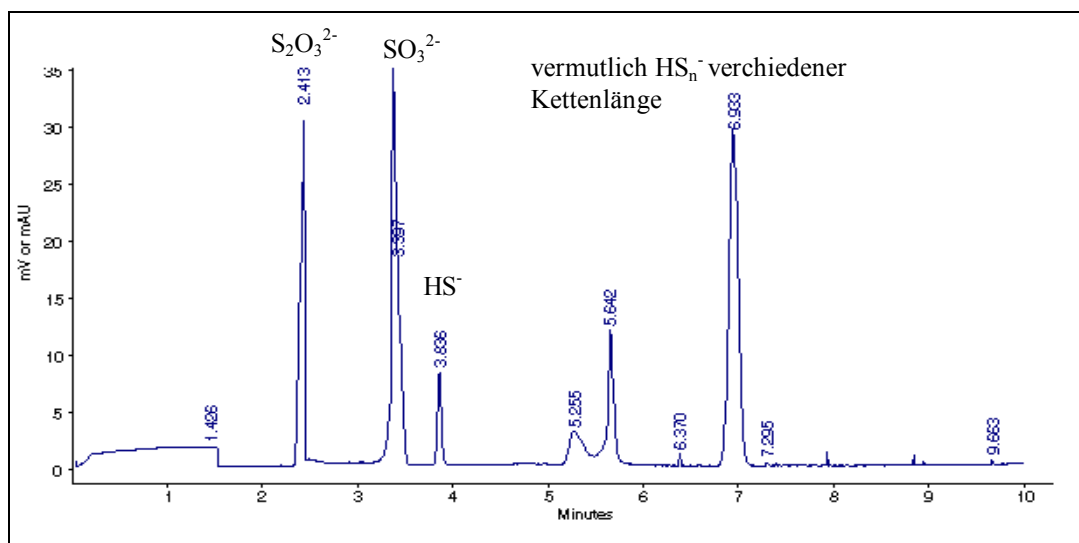


Abb. 76: Trennelektrolyt - Phosphat 50 mmol/L, pH 7,5, -15 kV, 20 °C, direkte Detektion  $\lambda = 210$  nm; Kapillare 42 cm / 75  $\mu$ m Quarz; Inj. 4 sec hydrodynamisch, Probe: Polysulfidlösung (1 : 100 frisch verdünnt).

Die verschmelzenden Signale mit Tailing bzw. Leading der Fronten lässt einen Gleichgewichtszustand zwischen den verschiedenen Spezies vermuten, der einem ständigen Umbau der Kettenlängen entspringt. Eine eindeutige Zuordnung der Signale zu bestimmten Kettenlängen der homologen Reihe war an Hand des Elektropherogramms nicht möglich. Bei einer Untersuchung von Polysulfid-Lösungen,



die aus einer Umsetzung von molekularem Schwefel und Sulfid in entsprechend stöchiometrischem Verhältnis für Kettenlängen von 3-6 Schwefelatomen gewonnen wurden, gelang kein Nachweis eines unterschiedlichen Signalspektrums. Neben dem Abbau der Polysulfide lässt sich mit der Methode auch der Abbau von Tetrathionat durch Sulfit oder Sulfid zu Thiosulfat und Trithionat verfolgen. Bei Zugabe von Sulfid und Sulfit reagiert Sulfid mit Tetrathionat bevorzugt zu Thiosulfat und wenig Trithionat. Sulfit kann auch noch nach 24 h im Gegensatz zu Sulfid nachgewiesen werden. In der Folge setzt eine Bildung von Tetrathionat ein.

Bei der Sulfitolyse von Tetrathionat zu Thiosulfat und Trithionat ist eine stärkere Trithionatbildung zu beobachten. Sulfit wird relativ schnell abgebaut und als Nebenreaktion zu Sulfat oxidiert. Sulfat ist hier nicht detektierbar. Die Sulfat-Bildung konnte bei Anwendung der indirekten Detektion und bei Untersuchungen mit Ionenaarchromatographie belegt werden.

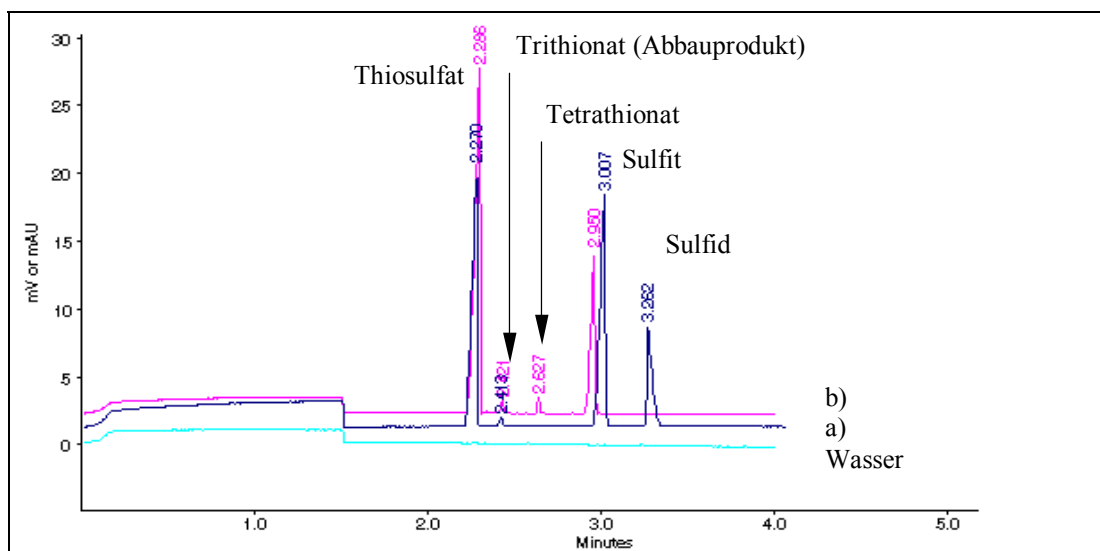


Abb. 77: Trennelektrolyt: Phosphat 50 mmol/L, pH 7,0, -15 kV, 20 °C, direkte Detektion  $\lambda = 210$  nm; Kapillare 42 cm / 75  $\mu$ m Quarz; Inj. 4 sec. hydrodynamisch Probe: Thiosulfat 60  $\mu$ g/mL, Sulfit und Sulfid je 80  $\mu$ g/mL, Tetrathionat 40  $\mu$ g/mL; a) frisch, b) nach 24 h, (Wasser als Blindprobe).

Dotiert man eine hochkonzentrierte Thiosulfat-Lösung mit einer Mischung aus Tetrathionat und Sulfit, ist im Vergleich zur Mischung ohne Thiosulfat ein schnellerer Abbau zu beobachten. Die Peakflächen nehmen in vergleichbarem Zeitraum stärker ab. Daraus ist zu schließen, dass große Mengen an Thiosulfat den Abbau katalysieren. Bei Zugabe von Tetrathionat und Sulfit zu einem Thiosulfat-Überschuss wurde zeitweise ein nichtidentifizierbares Signal mit einer Selektivität zwischen Tetrathionat und Sulfit beobachtet.

Es lässt sich eine leichte Verschiebung der Migrationszeiten bei hohem Thiosulfat-Überschuss feststellen. Die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten nimmt bei großem Thiosulfat-Überschuss ab. Die Migrationszeit von Trithionat bei annähernd gleichen Konzentrationen aller Komponenten liegt bei Betrachtung der Peakbasis eines Thiosulfat-Überschusses in diesem Migrationszeit-Intervall. Neben einem Überschuss wird es jedoch noch als nicht völlig aufgelöstes Signal sichtbar.

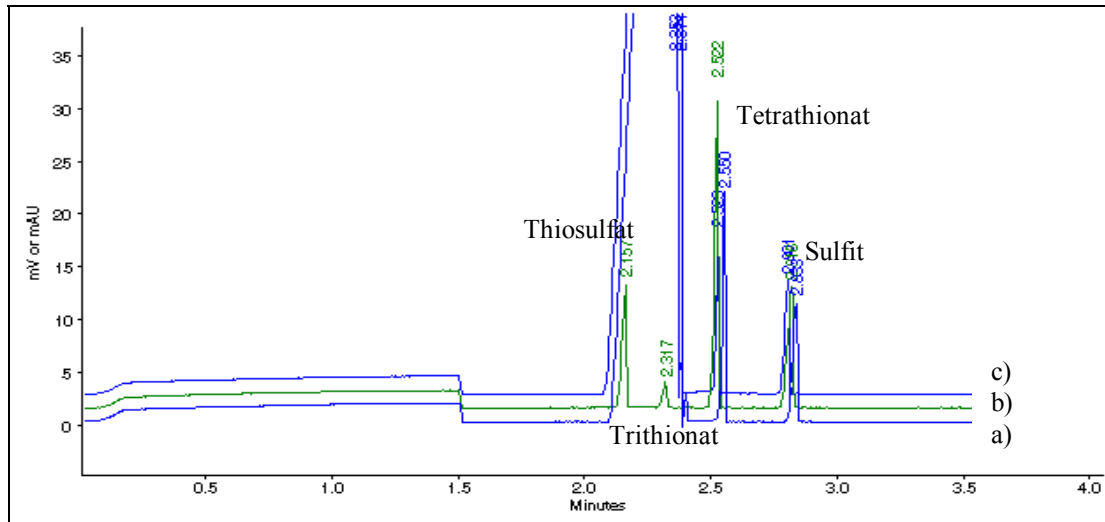


Abb. 78: Elektropherogramm: Trennelektrolyt Phosphat 50 mmol/L, pH 7,0, -15 kV, 20 °C, direkte Detektion  $\lambda = 210$  nm; Kapillare 42 cm / 75  $\mu$ m Quarz; Inj. 4 sec., Probe: a) und c) Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL 1 : 20, dotiert mit Tetrathionat und Sulfit je 50  $\mu$ g/mL b) Thiosulfat 60  $\mu$ g/mL, Tetrathionat und Sulfit je 50  $\mu$ g/mL.

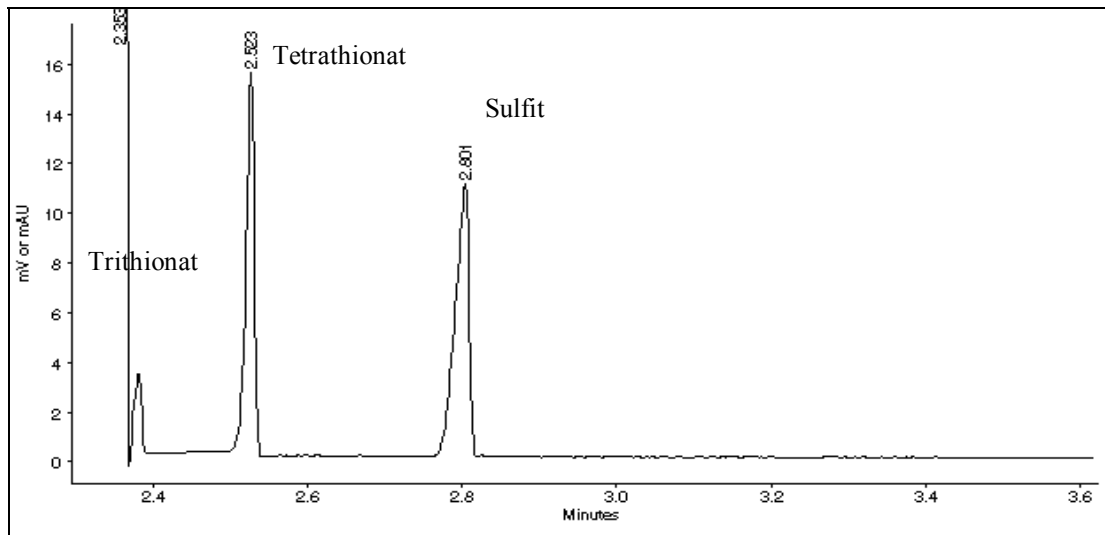


Abb. 79: Neben dem Einsatz von Quarzkapillaren wurde eine Kapillare mit einer C18-modifizierten Oberfläche (CElect®H2) getestet. Durch die Hydrophobizität verringert sich der Elektroosmotische Fluss um etwa 1/3 auf 65 % der EOF-Geschwindigkeit einer Quarzkapillare bei pH 7<sup>4</sup>.

Bei der Auswahl der Trennbedingungen muss berücksichtigt werden, dass eine Veränderung von pH-Wert und Viskosität eine geringere Veränderung bezüglich der Gesamtgeschwindigkeit bewirken, da der EOF hier durch diese Parameter weniger stark beeinflusst wird. Die Auswirkungen der Änderung verschiedener Parameter auf das Trennverhalten bei Einsatz der CElect® H2 Kapillare wurde speziell für Thiosulfat und die Polythionate (Tetrathionat bis Hexathionat) bei Konzentrationen im unteren ppm-Bereich systematisch untersucht. Bei Überschuss von Thiosulfat kommt es durch Beeinflussung einzelner Mobilitäten zu entsprechenden Abweichungen in Selektivität und Auflösung.

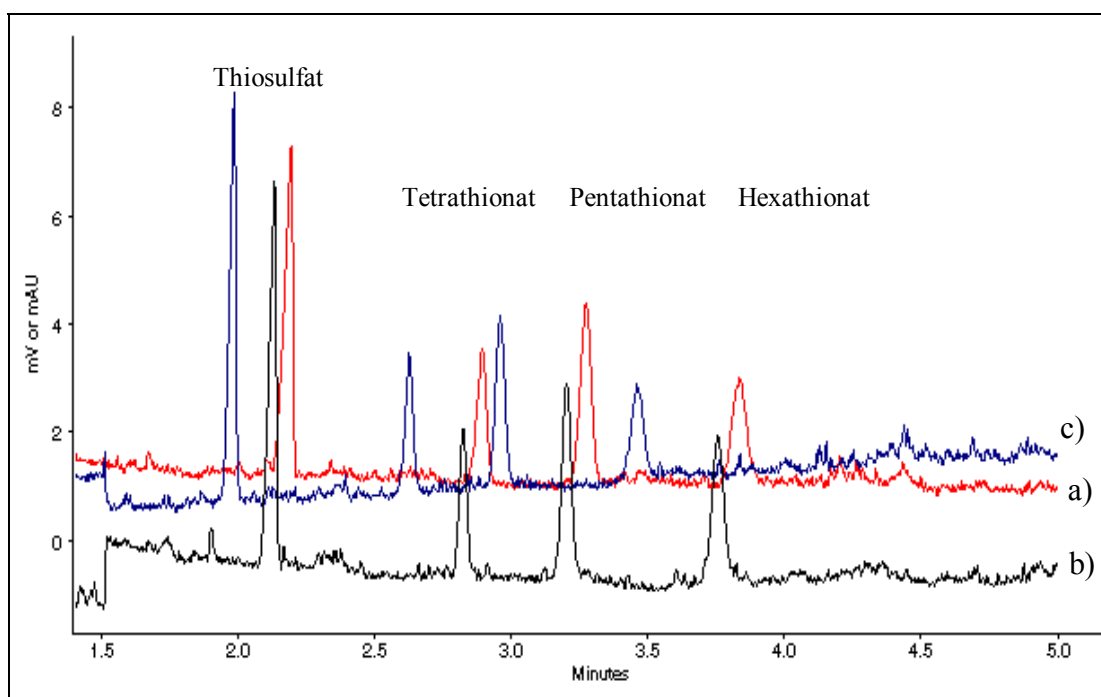


Abb. 80: Vergleich von verschiedene pH-Werten – Trennelektrolyt: Phosphat 50 mmol/L a) pH 6,0 b) pH 7,0 c) pH 8,0; -16 kV, 20 °C, direkte Detektion  $\lambda = 214$  nm; Kapillare 37 cm / 75  $\mu$ m CElect® H275; Inj. 4 sec. hydrodynamisch, Probe: Thiosulfat 20  $\mu$ g/mL, Tetrathionat, Pentathionat, Hexathionat je 10  $\mu$ g/mL.

<sup>4</sup> SUPELCO Instruction Manual CElect<sup>TM</sup> Electrophoresis Columns

Tab. 27: ausgewählte Beispiele für das Trennverhalten von Thiosulfat und höherer Polythionate – Phosphatsystem CElect<sup>®</sup> H275 (Kapillare 4).

Trennsystem: Phosphat 50 mmol/L	geänderter Parameter	Thiosulfat $t_m$ in min	Tetrathionat $t_m$ in min $\alpha_{\text{Thio.}}$	Pentathionat $t_m$ in min $\alpha_{\text{Tetra}}$	Hexathionat $t_m$ in min $\alpha_{\text{Penta}}$
pH 7,02, 432 V/cm, (16 kV) 20 °C,	Vergleichs- bedingung	2,14 --	2,84 1,33	3,24 1,14	3,79 1,17
pH 7,02, 486 V/cm, (18 kV) 20 °C,	$\vec{E}$	1,41 --	1,93 1,37	2,21 1,15	2,52 1,14
pH 7,02, 270 V/cm, (10 kV) 20 °C,		4,19 --	5,71 1,36	6,52 1,14	7,89 1,21
pH 7,02, 432 V/cm, 15 °C,	$T$	2,25 --	3,05 1,36	3,49 1,14	4,05 1,16
pH 7,02, 432 V/cm, 40 °C,		1,72 --	2,29 1,33	2,59 1,13	3,11 1,20
pH 7,02, 432 V/cm, 60 °C,		1,55 --	2,17 1,40	2,38 1,10	2,75 1,16
pH 7,02, 432 V/cm, 20 °C, 10% MeOH	$W_{\text{org.Modif.}}$ (v/v)	2,55 --	3,35 1,31	3,65 1,09	4,25 1,16
pH 7,02, 432 V/cm, 20 °C, 20% MeOH		3,15 --	4,10 1,30	4,62 1,13	5,19 1,12
pH 7,02, 432 V/cm, 20 °C, 10% n-Prop.		1,95 --	2,25 1,15	2,45 1,09	2,70 1,10
pH 5,99, 432 V/cm, 20 °C,	pH	2,17 --	2,89 1,33	3,28 1,14	3,86 1,18
pH 8,03, 432 V/cm, 20 °C,		2,00 --	2,64 1,32	2,97 1,13	3,47 1,17
pH 7,1, 432 V/cm, 20 °C, TBAOH 3,1 mmol/L	$C_{\text{EOF-Modif.}}$	2,00 --	2,67 1,34	3,03 1,13	3,56 1,18
pH 7,4, 432 V/cm, 20 °C, TBAOH 9,3 mmol/L		1,88 --	2,63 1,40	3,16 1,20	3,75 1,19

Die elektrophoretischen Mobilitäten der Ionen unterscheiden sich beim Vergleich der Quarzkapillare mit der CElect<sup>®</sup>H2 Kapillare. Während unter sonst vergleichbaren Bedingungen höhere Wanderungsgeschwindigkeiten für Pentathionat und Hexathionat in der hydrophoben Kapillare beobachtet wurden, wurden für Thiosulfat und Tetrathionat niedrigere Wanderungsgeschwindigkeiten festgestellt. Da auf Grund des abgeschwächten kathodisch gerichteten EOF eine grundsätzlich kürzere Migrationszeit in Richtung Anode zu erwarten war, scheinen hier weitere Effekte die Mobilität zu beeinflussen.

Bei einer Erhöhung der Feldstärke verkürzen sich die Migrationszeiten. Hexathionat und Thiosulfat werden hierbei nicht im gleichen Maß wie Tetrathionat und Pentathionat beschleunigt, so dass eine stärkere Änderung der Selektivitätsfaktoren beobachtet werden kann.

Bei Erhöhung der Temperatur nimmt die Mobilität der Ionen zu, wobei sich die Migrationszeiten deutlich verkürzen. Die Selektivitätsfaktoren verändern sich ebenfalls. Der Abstand von Tetrathionat zu Thiosulfat verringert sich bei Erhöhung der Temperatur zunächst. Bei einem Anstieg der Temperatur auf 60 °C erhöht sich die Mobilität von Thiosulfat jedoch stärker, so dass das Verhältnis der Migrationszeiten zueinander wieder ansteigt. Für Hexathionat wird ebenfalls erst bei höheren Temperaturen eine Zunahme der Mobilität beobachtet.

Bei einem pH-Wert von  $\approx 6$  verlängern sich die Migrationszeiten bei weitestgehend gleich bleibenden Selektivitätsfaktoren. Die Erhöhung des pH-Wertes auf 8 resultiert in einer Beschleunigung der Wanderungsgeschwindigkeit mit geringfügig niedrigeren Selektivitätsfaktoren.

Der Zusatz von Methanol reduziert die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen unterschiedlich, wobei zumeist eine Verringerung der Selektivitätsfaktoren zu beobachten ist. Bei Zusatz von n-Propanol hingegen erfolgt eine Erhöhung der Wanderungsgeschwindigkeit mit starker Verringerung aller Selektivitätsfaktoren

Ein Zusatz von Tetrabutylammoniumhydroxid geht zunächst mit einer kürzeren Migrationszeit einher. Bei höheren Konzentrationen verkürzt sich die Retentionszeit für Thiosulfat und Tetrathionat weiter, während Pentathionat und Hexathionat langsamer wandern. Die Selektivitätsfaktoren steigen an.

Tab. 28: ausgewählte Beispiele für die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten – Phosphatsystem  
 Phosphat 50 mmol/L, pH 7,7; 20 °C; 357 V/cm (Quarz) und 432 V/cm (CElect® H2).

Kapillare	Thio sulfat $t_m$ in min s in min VK in % (n)	Trithio nat $t_m$ in min s in min VK in % (n)	Tetra thionat $t_m$ in min s in min VK in % (n)	Sulfit $t_m$ in min s in min VK in % (n)	Sulfid $t_m$ in min s in min VK in % (n)	Penta thionat $t_m$ in min s in min VK in % (n)	Hexa thionat $t_m$ in min s in min VK in % (n)
1 - Quarz 42 cm 75 $\mu$ m	2,24 0,05 2,1 (7)	2,37 0,05 2,0 (6)	2,58 0,05 2,1 (4)	2,89 0,10 3,6 (7)	3,27 0,12 3,6 (6)	3,72 0,15 4,0 (6)	4,56 0,19 4,2 (6)
2 - Quarz 43 cm 50 $\mu$ m	2,64 0,12 4,6 (7)	--	4,23 0,34 8,0 (9)	--	--	5,85 0,67 11,4 (9)	9,50 1,40 14,7 (6)
4 - CElect H2 37 cm 75 $\mu$ m	2,14 0,02 1,04 (4)	--	2,84 0,04 1,28 (5)	--	--	3,24 0,03 0,78 (5)	3,79 0,03 0,90 (5)

Die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten liegt im Mittel bei Standardabweichungen von 0,1 min. Bei Kapillaren mit stärkeren EOF-Schwankungen fällt die Standardabweichung jedoch teilweise mit bis zu 1,5 min höher aus. Es wurde beobachtet, dass bei problematischen Kapillaren auch umfangreiche Konditionierungen, z. B. mit NaOH und Reinstwasser bei 60 °C und HGE bei Arbeitstemperatur, nicht zu einer Verbesserung der Präzision führten. Für die eindeutige Identifizierung und Bestimmung der höheren Polythionate sind die ermittelten Selektivitätsfaktoren bei den entsprechenden Standardabweichungen der Migrationszeiten ausreichend. Bei der Unterscheidung von Thiosulfat, Trithionat, Sulfit und Tetrathionat überschneiden sich die Vertrauensintervalle ( $CI_{95\%}$ ) der Erwartungswerte geringfügig. Die häufige Injektion eines Standards oder eine Dotierung wäre deshalb zwischen den Bestimmungen zur eindeutigen Identifizierung empfehlenswert. Damit erhöht sich jedoch der Aufwand im Hinblick auf Analysendauer und Probenaufwand bei einer Bestimmung.

Die Wiederholpräzision der Migrationszeiten fällt im Vergleich zu der ermittelten Reproduzierbarkeit höher aus. Die ermittelte Standardabweichung liegt für die CElect<sup>®</sup>H2 Kapillare zwischen 0,07 min und 0,1 min, für die Quarzkapillare bei bis zu 1 min.

Bei der Bestimmung der Ionen neben hochkonzentriertem Thiosulfat kommt es zu einer Verschlechterung der Präzision. Die Robustheit des Systems gegenüber kleineren Schwankungen ist gering. So wurde z. B. der Injektion von hochkonzentrierter Natriumthiosulfat-Lösung, dotiert mit Tetrathionat, eine Abweichung der Migrationszeit von Thiosulfat bei einer Einzelinjektion in einer Messserie von 1,2 min zur mittleren Migrationszeit beobachtet. Als Ursache kommt hier eine Störung im elektroosmotischen Fluss in Betracht.

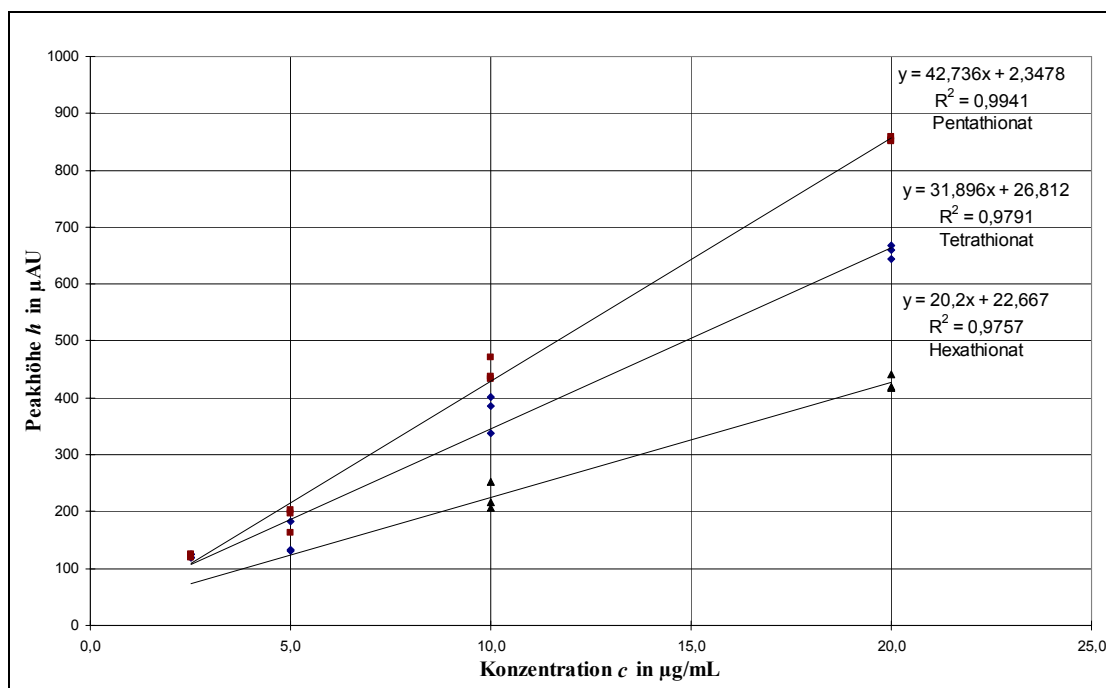


Abb. 81: Kapillarelektrophoretische Bestimmung von Polythionaten in thiosulfatfreier Lösung, Kalibrierung über die Peakhöhe, Trennbedingungen: Kapillare 43 cm / 75  $\mu\text{m}$  Quarz, Detektion 215 nm, -16 kV, 20 °C, Phosphat 50 mmol/L pH 7,0, Injektion 3 sec. hydrodynamisch.

Bei einer Kalibrierung wurde eine Auswertung der Peakhöhe vorgezogen, da die Messwerte im Vergleich zur Peakfläche eine höhere Reproduzierbarkeit aufweisen. Auch unter Verwendung korrigierter Peakflächen fällt die Verfahrensstandardabweichung höher aus. Die elektrokinetische Injektion erscheint gegenüber der hydrodynamischen Injektion zu einer deutlichen Diskriminierung zu führen. Die Kalibriergeraden schneiden hier die Konzentrationsachse bei etwa 1  $\mu\text{g/mL}$ .

Die Nachweisgrenzen der Polythionate in thiosulfatfreier Lösung liegen bei hydrodynamischer Injektion unter Berücksichtigung der Integrierbarkeit der Signale und der signifikanten Unterscheidung vom Grundrauschen für Tetrathionat und Pentathionat bei 1 µg/mL, für Hexathionat bei etwa 4 µg/mL. Die Bestimmungsgrenzen liegen bei etwa 3 µg/mL für Pentathionat und Tetrathionat, bei über 10 µg/mL für Hexathionat.

Die relativen Verfahrensstandardabweichungen liegen zwischen 6,0 % und 11,4 %. Die Korrelationskoeffizienten liegen über 0,988. Die Empfindlichkeit nimmt von Pentathionat zu Tetrathionat und weiter zu Hexathionat ab. Die Achsenabschnitte sind in allen Fällen nicht signifikant von Null verschieden. Es bleiben etwa 2 % der Gesamtstreuung durch den Zusammenhang Absorption - Konzentration unerklärt. Die relative Standardabweichung der Peakhöhen liegt zwischen 3,1 % und 14,8 %.

Für Tetrathionat konnte eine separate Kalibrierung im ppb-Bereich bei längerer Injektionszeit (4 sec), Erhöhung der Feldstärke (-21 kV; 488 V/cm) und direkter Detektion bei 210 nm durchgeführt werden. Die Nachweisgrenze konnte in thiosulfatfreier Lösung somit auf 0,35 µg/mL ( $f = 6$ ;  $k = 9$ ;  $\alpha = 0,05$ ) gesenkt werden.

Die Bestimmungsgrenze liegt bei 1,3 µg/mL. Die relative Verfahrensstandardabweichung liegt bei 4,35 %. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,9978. Der Achsenabschnitt ist nicht signifikant von Null verschieden. Der Anstieg unterschied sich von der Kalibrierung im unteren ppm-Bereich durch eine höhere Empfindlichkeit.

Neben hochkonzentrierten Natriumthiosulfat-Lösungen verschlechterten sich die Nachweisgrenzen deutlich. Als optimale Verdünnung unter Berücksichtigung integrierbarer Signale bei möglichst niedriger Nachweisgrenze wurde der Faktor 20 gefunden. In höher konzentrierten Lösungen verschlechterten sich die Reproduzierbarkeit, die Auflösung und die Empfindlichkeit.

In einer 1:20 verdünnten Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL wurde eine Nachweisgrenze von 8,2 µg/mL Tetrathionat erreicht ( $f = 12$ ;  $k = 5$ ;  $\alpha = 0,05$ ). Die Nachweisgrenze verschlechtert sich somit um den Faktor 20. Berechnet auf die unverdünnte Injektionslösung entspricht das einer nachweisbaren Konzentration von 40,8 µg/mL Tetrathionat. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 29,7 µg/mL in der verdünnten Lösung, berechnet für eine 10 %ige Injektionslösung entspricht das einer Konzentration von 148,4 µg/mL Tetrathionat.



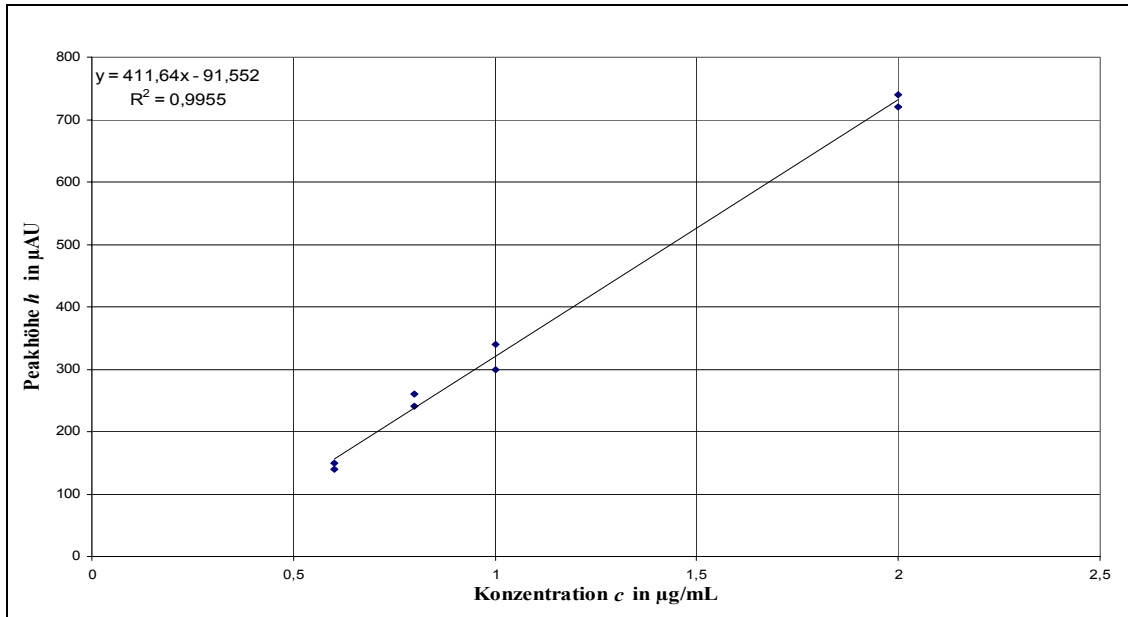


Abb. 82: Kalibrierung Tetrathionat in thiosulfatfreier Lösung ppb-Bereich - Trennbedingungen: Kapillare 43 cm / 75  $\mu\text{m}$  Quarz, Detektion 210 nm, -21 kV, 20 °C, Phosphat 50 mmol/L, pH 7,0, Injektion 4 sec. hydrodynamisch, Kalibrierung über die Peakhöhe.

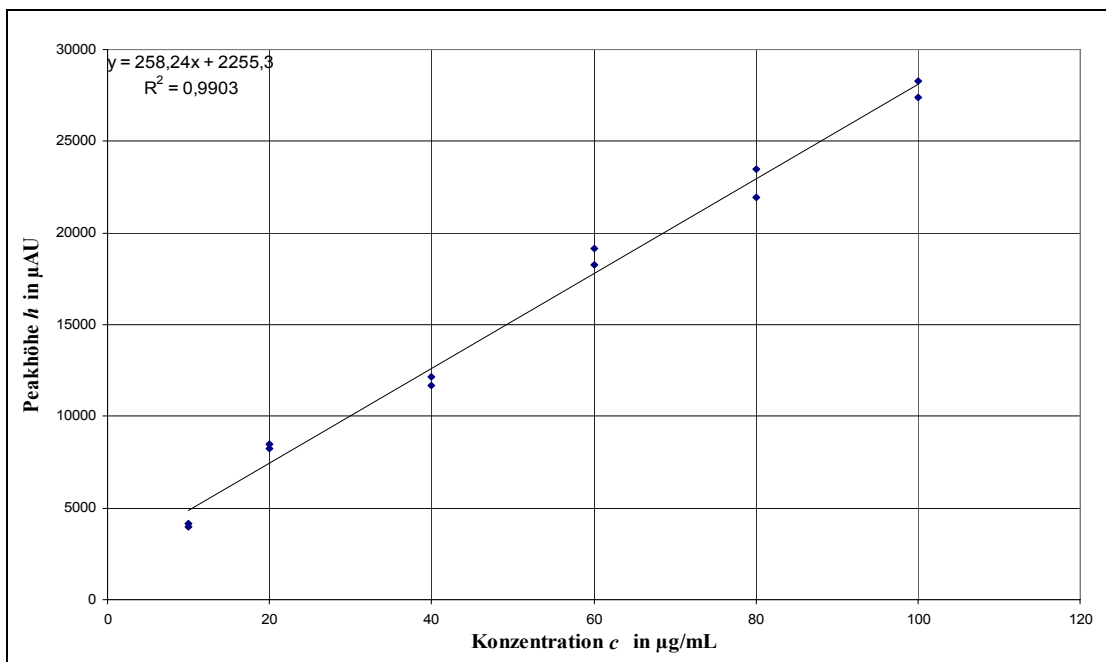


Abb. 83: Kalibrierung von Tetrathionat in 0,5 %iger Natriumthiosulfat-Lösung im ppm-Bereich - Trennbedingungen: Kapillare 43 cm / 75  $\mu\text{m}$  Quarz, Detektion 210 nm, -21 kV, 20 °C, Phosphat 50 mmol/L pH 7,0, Injektion 4 sec. hydrodynamisch, Kalibrierung über die Peakhöhe.

Unterhalb einer Konzentration von 5 µg/mL (verdünnte Lösung) waren keine reproduzierbaren Ergebnisse mehr erhältlich. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,9951. Die relative Verfahrensstandardabweichung liegt bei 6,7 %. Es sind über 99 % der Gesamtstreuung durch den linearen Zusammenhang erklärbar. Die Präzision der gemessenen Peakhöhen entspricht einem VK von 3,4 %. Der prozentuale Fehler der Bestimmung bei Berechnung der Wiederfindung liegt unter 10,3 %. Bei Einsatz der CElect® H2 Kapillare wurden vergleichbare Ergebnisse im Hinblick auf Nachweisgrenze und Präzision erhalten.

Bei der Untersuchung der Realproben konnten in einer 1:20 Verdünnung keine Polythionate nachgewiesen werden. Eine quantitative Bestimmung der Polythionate in den Injektionslösungen war somit nicht möglich. Die Nachweisgrenzen und Bestimmungsgrenzen der Methode liegen über den Konzentrationen der Polythionate, die in den Injektionslösungen bei entsprechender Zersetzung auftreten.

Bei einer Injektion von unverdünnten oder 1 : 1 verdünnten Injektionslösungen waren z. T. Signale erkennbar, die auf Spuren von Tetrathionat schließen lassen. Die hohe Impräzision in diesem Konzentrationsbereich machte jedoch eine Kalibrierung und Quantifizierung unmöglich. Die relative Standardabweichung der Peakhöhe lag bei VK = 25,0 % (Natriumthiosulfat-Lösung 10 g/ 100mL 1 : 1 verdünnt mit 10 µg/mL Tetrathionat dotiert; n = 3). Die detektierte mittleren Peakhöhen bei 1 : 1 verdünnten Injektionslösungen (Chargen  $I_B^1$ ,  $II_A^2$ ,  $II_B^2$ ) erlauben eine vorsichtige Schätzung des Tetrathionat-Gehalts auf < 10 µg/mL.

Neben der Bestimmung der Polythionate wurde die Möglichkeit der Bestimmung von Sulfit untersucht. Dazu wurde eine Kalibrierung in Natriumthiosulfat-Lösung vorgenommen. Die optimale Mindest-Verdünnung für auswertbare, reproduzierbare Elektropherogramme beträgt auch hier 1 : 20. Die erreichte Nachweisgrenze beträgt dabei 14,1 µg/mL Sulfit in der verdünnten Lösung ( $f=6$ ;  $k=5$ ;  $\alpha=0,05$ ). Bei Berechnung für die unverdünnte Lösung entspricht das einer Nachweisgrenze von 282 µg/mL. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 33,1 µg/mL respektive 662 µg/mL in der 10 %igen Injektionslösung. Die relative mittlere Verfahrensstandardabweichung beträgt 8,5 %. Der Korrelationskoeffizient liegt bei 0,9868. Der Achsenabschnitt ist signifikant von Null verschieden. Die Empfindlichkeit der Bestimmung liegt deutlich unter der Empfindlichkeit der Polythionatbestimmung.

Bei der Untersuchung von Injektionslösungen konnte mit Hilfe der Kapillarelektrophorese kein Sulfit nachgewiesen werden. Auch in Lösungen, die einen Sulfitzusatz als Rezepturbestandteil aufwiesen, war kein Signal detektierbar.

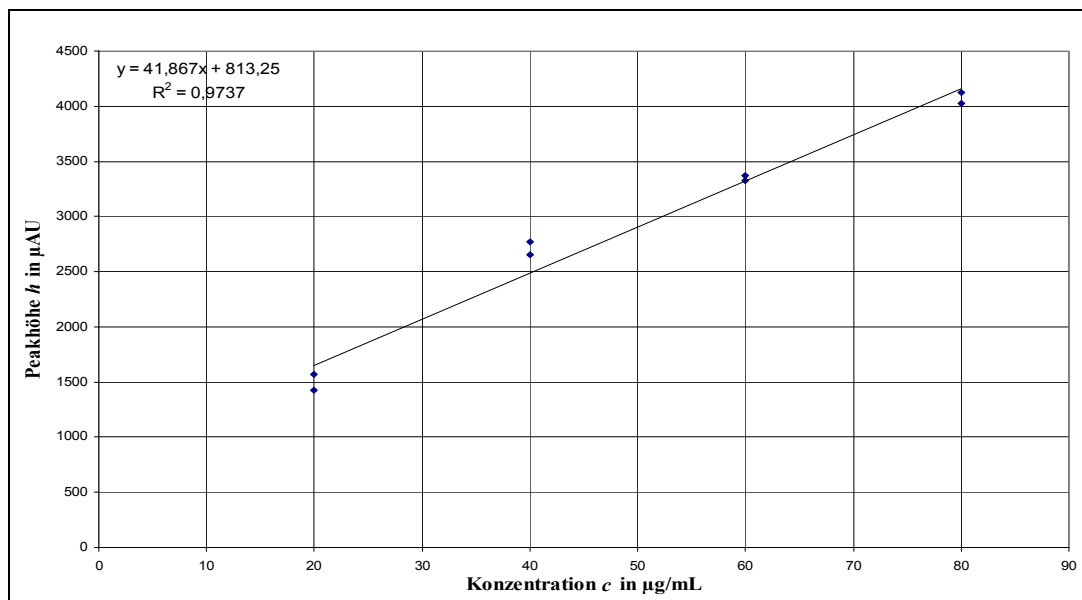


Abb. 84: Kalibrierung Sulfit in Natriumthiosulfat-Lösung 0,5 g/ 100 mL, Trennbedingungen: Phosphat 50 mmol/L pH 7,0; Kapillare 43 cm / 75  $\mu\text{m}$  Quarz, Detektion 210 nm, -15 kV, 20 °C, Injektion 4 sec. hydrodynamisch, Kalibrierung über die Peakhöhe.

### 3.2.5.2 Parameter der Bestimmung von Sulfat

Zur Quantifizierung von Sulfat in 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen wurde auf Grund der fehlenden Eigenabsorption von Sulfat auf eine indirekte UV-Detektion zurückgegriffen. Aus den Vorversuchen mit Gemischen der Ionen im ppm-Bereich und neben Thiosulfat-Überschuss resultierte, dass Trennsysteme mit auf Pyromellitsäure und DETA oder TEMED das Optimum im Hinblick auf Selektivität und Auflösung, Grundrauschen, Reproduzierbarkeit, akzeptabler Analysendauer und Robustheit darstellen. Bei Systemen mit Naphthalintrisulfonsäure und Naphthalintetracarbonsäure wurden höhere Selektivitätsfaktoren ermittelt, die Präzision fiel jedoch deutlich geringer aus und die Basislinienstörungen verhinderten eine Quantifizierung mit genügender Präzision und Richtigkeit. Die Systeme auf Basis von Chromat gestatteten keine Trennung von Sulfat und Trithionat. Bei Molybdat- und Chromat-Elektrolyten fiel die Nachweisgrenze für Polythionate deutlich niedriger aus.

Die Selektivitätsfaktoren und Auflösungen im Versuch mit gleichförmigen Konzentrationen im ppm-Bereich bei Methanol- und Propanol-Zusatz sowie TEMED lagen für einige Ionen höher im Vergleich zu Systemen ohne Zusatz und / oder bei Verwendung von DETA. Die Präzision fiel jedoch deutlich geringer aus. Bei Thiosulfat-Überschuss nehmen bei diesen Systemen die Präzision und die Robustheit stärker ab (Basislinienschwankungen, Migrationszeitdrift, Peakdeformation, Streuung).

Für die Bestimmung von Sulfat wurde deshalb ein Trennsystem mit Pyromellitsäure und Diethylentriamin bei pH 7,5 unter Verwendung einer Quarzkapillare eingesetzt [Methode CE1]. Die entscheidende Auflösung von Sulfat neben Thiosulfat-Überschuss ist mit  $R_s = 2,35$  ausreichend. Spuren von Trithionat stören die Bestimmung nicht, da Trithionat als schmaler Peak mit Selektivitätsfaktoren von je 1,03 zwischen Thiosulfat und Sulfat migriert und meist unterhalb der NWG vorliegt.

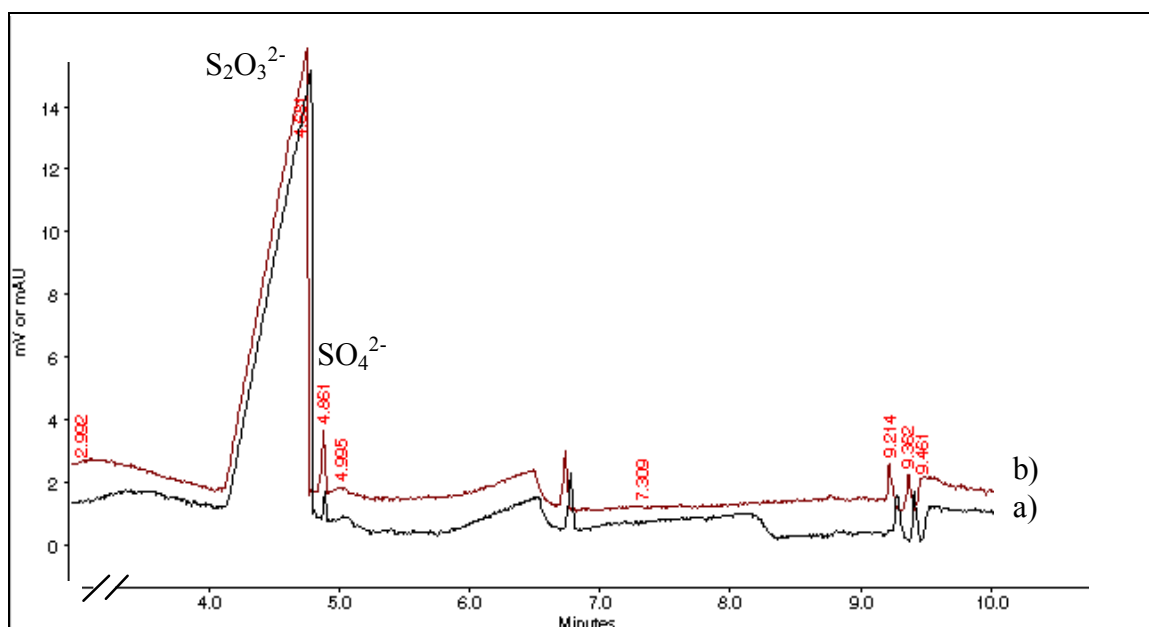


Abb. 85: Beispiel für die Trennung von Sulfat neben Thiosulfat-Überschuss – Trennbedingungen: PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L, pH 7,5, -30 kV, 30 °C, Kapillare 70 cm / 75 µm Quarz, Injektion 6 sec hydrodynamisch, Probe: Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL – a) Blindwert undotiert und b) mit 300 µg/mL Sulfat dotiert - jeweils 1 : 200 verdünnt, HCHO-stabilisiert.

Tab. 29: Elektrophoretische Kennzahlen Sulfat neben Thiosulfat-Überschuss.

Ion	$t_m$ in min	s in min	VK <sub>tm</sub> in % (n)	$\alpha$	$R_s$
Thiosulfat	4,763	0,069	1,44 (5)	--	--
Sulfat	4,943	0,085	1,72 (30)	1,06	2,35

Um eine Verfälschung des ermittelten Sulfatgehalts durch oxidiertes Sulfit zu verhindern, wurden die Proben stabilisiert. Dazu wurde Formaldehyd in alkalischem Milieu herangezogen. Die Proben wurden mit einer entsprechend frisch hergestellten Lösung zur Verdünnung aufgefüllt, so dass sie eine Endkonzentration von 0,185 % (v/v) Formaldehyd und 1 mmol/L Natriumhydroxid enthielten. Die Stabilisierung störte die Sulfatbestimmung nicht. Die Kalibrierung wurde als Doppel-Bestimmung durchgeführt. Als abzudeckender Konzentrationsbereich wurde aus Vorversuchen mit verschiedenen Injektionslösungen der Bereich von 100 µg/mL bis 600 µg/mL Sulfat, bezogen auf eine unverdünnte 10 %ige Natriumthiosulfat-Injektionslösung, ermittelt.

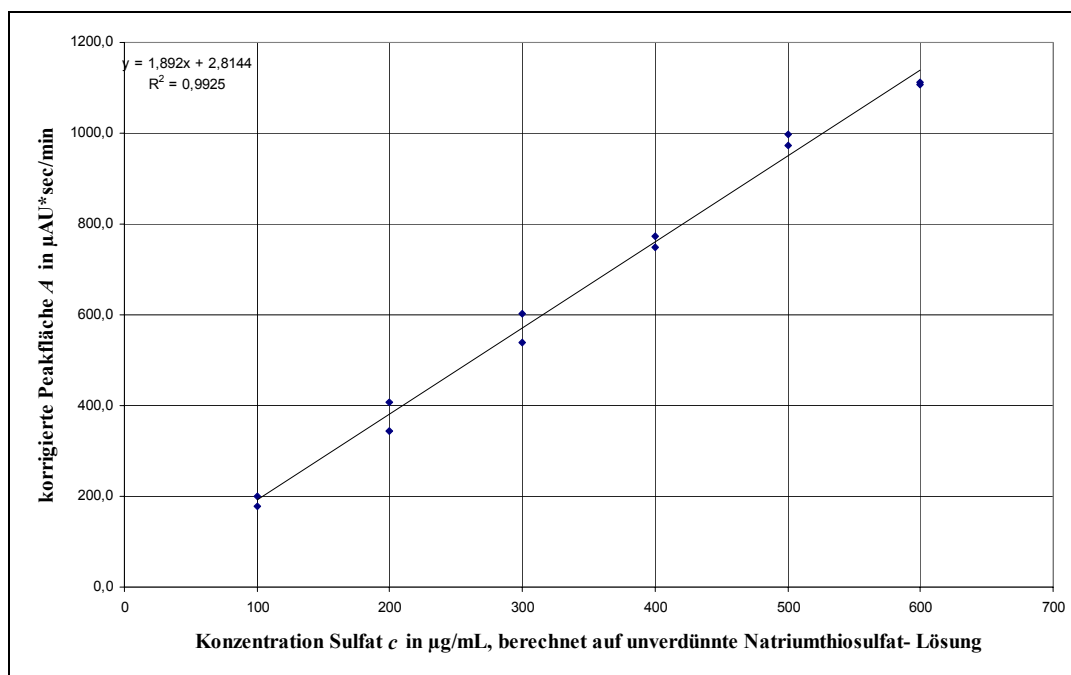


Abb. 86: Kalibrierung Sulfat in Natriumthiosulfat-Lösung 10g / 100 mL bei Verdünnung 1 : 200 (Konzentrationsangabe Sulfat bezogen auf unverdünnte Lösung) mit kapillarelektrophoretischer Bestimmung, Methode CE1.

Unter Berücksichtigung der Verdünnung auf 1/200 der ursprünglichen Konzentration entspricht dieser Bereich Konzentrationen im Analyten von 500 ng/mL bis zu 3,0 µg/mL Sulfat in einer 0,05 %igen Natriumthiosulfat-Lösung. Es wurde eine Verdünnungsreihe mit sechs Konzentrationen gewählt. Der Blindwert wurde bei der Kalibrierung aus einer entsprechend verdünnten Natriumthiosulfat-Lösung ermittelt.

Die Steigung ist signifikant, der Achsenabschnitt ist nicht signifikant ( $VK_a = 724 \%$ ). Es liegen bei Betrachtung der Residuen keine Hinweise auf einen nichtlinearen

Zusammenhang vor. Die Korrelationskoeffizient beträgt 0,9962, die Korrelation ist hoch signifikant ( $P < 0,0005$ ). Durch den Zusammenhang nach Regression werden über 99 % der Gesamtstreuung erklärt. Die relative Verfahrensstandardabweichung beträgt 4,7 %.

Die mittlere relative Standardabweichung der korrigierten Peakfläche (Quotient aus Peakfläche und Migrationszeit) beträgt unter Wiederholbedingungen 1,72 %. Der Variationskoeffizient der Migrationszeit beträgt 1,44 %.

Die aus der Kalibrierung ermittelte Bestimmungsgrenze für Sulfat in einer Natriumthiosulfat-Injektionslösung mit 10 g / 100 mL beträgt 120  $\mu\text{g/mL}$  ( $f = 10$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 4$ ). Bei Berücksichtigung der Verdünnung von 1 : 200 liegt diese Konzentration im oberen ppb-Bereich und entspricht 0,6  $\mu\text{g/mL}$  Sulfat neben 0,5 mg/mL Natriumthiosulfat. Bezogen auf das Anion entspricht das einem Verhältnis von etwa 1 : 375 Sulfat:Thiosulfat.

Tab. 30: Grenzwerte der Kalibrierung.

Parameter	Ermittelter Wert, bezogen auf die unverdünnte 10 %ige Lösung	Absoluter Wert in verdünnter Lösung	Einheit
$\Delta a$	78,4		$\mu\text{AU} \cdot \text{s/min}$
$y_k$	81,2		$\mu\text{AU} \cdot \text{s/min}$
$x_{\text{NG}}$	41,4	0,21	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{EG}}$	82,9	0,41	$\mu\text{g/mL}$
$x_{\text{BG}}$	119,7	0,60	$\mu\text{g/mL}$

Die Nachweisgrenze liegt bei 41  $\mu\text{g/mL}$  Sulfat in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung. Das entspricht einer Probenkonzentration von 210 ng/mL Sulfat. Bezogen auf das Anion entspricht das einem Verhältnis von etwa 1 : 1100 Sulfat:Thiosulfat. Der mittlere prozentuale Fehler der Wiederfindung im Bereich des Schwerpunkts der Kalibrierung beträgt 7,9 %. Der mittlere absolute Fehler liegt bei 21,5  $\mu\text{g/mL}$  (bezogen auf die unverdünnte Injektionslösung). Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt im Mittel 6,5 %, was einer Abweichung von etwa  $\pm 17 \mu\text{g/mL}$  Sulfat (bezogen auf die unverdünnte Injektionslösung) entspricht.

### 3.2.5.3 Vermessen von Realproben

Bei der Entwicklung aller Trennsysteme wurden sämtliche Injektionslösungen in niedriger und hoher Verdünnung injiziert, um das Zersetzungsprofil abschätzen zu können. Bei diesen Untersuchungen wurde bei der kapillarelektrophoretischen Trennung in allen Lösungen lediglich Sulfat nachgewiesen. Einen Hinweis auf Sulfit, Sulfid, Polysulfide und Polythionate oberhalb der erreichbaren Nachweisgrenze gab es nicht. In einem Fall wurden Spuren von Trithionat nahe der Nachweisgrenze identifiziert. Aus diesem Grund wurde ausschließlich eine Quantifizierung von Sulfat in den Realproben vorgenommen.

Entsprechend der Vorgehensweise bei der Kalibrierung wurden die Injektionslösungen 1:200 verdünnt und dabei mit der HCHO / NaOH-Stabilisatorlösung aufgefüllt. Die Proben wurden sofort vermessen. Die Bestimmung wurde als unabhängige Doppelbestimmung durchgeführt. Es wurden die korrigierten Peakflächen als Quotient aus Peakfläche und Migrationszeit berechnet. In jeder Messserie wurden zwei Standardlösungen zur Kontrolle der Gültigkeit der Kalibrierung mitgeführt. Es wurden keine signifikanten Abweichungen in der Wiederfindung und in der Empfindlichkeit im Vergleich zur Kalibrierung festgestellt.

Der Gehalt an Sulfat in den 10 %igen Injektionslösungen (einmal 15 %ige Lösung) bewegt sich zwischen 120 µg/mL und 599 µg/mL Sulfat, bezogen auf die unverdünnten Injektionslösungen. Alle Werte liegen oberhalb der Bestimmungsgrenze. In den alkalisch stabilisierten Lösungen und den ebenfalls alkalisch eingestellten Handelspräparaten wurde ein im Vergleich niedrigerer Gehalt an Sulfat gefunden. Der höchste Gehalt wurde in den ältesten Chargen der wenig stabilisierten Rezepturen II und III ermittelt. Es zeigt sich eine Zunahme des Sulfatgehalts im Laufe der Lagerung.

Der Unterschied zwischen den sterilfiltrierten und sterilisierten Chargen fällt nicht einheitlich aus. In den meisten Fällen liegt der Sulfatgehalt der sterilisierten Chargen signifikant höher im Vergleich zur sterilfiltrierten Charge.

Unter der Annahme, dass der gesamte ermittelte Sulfatgehalt aus der Zersetzung von Natriumthiosulfat stammt (Blindwert Sulfatausgangs-Verunreinigung unberücksichtigt) und 1 mol Thiosulfat je 1 mol Sulfat bildet, entspricht die maximal gefundene Sulfatkonzentration von  $\approx 600 \mu\text{g/mL}$  einem Zersetzungsgrad von etwa 1,6 %.

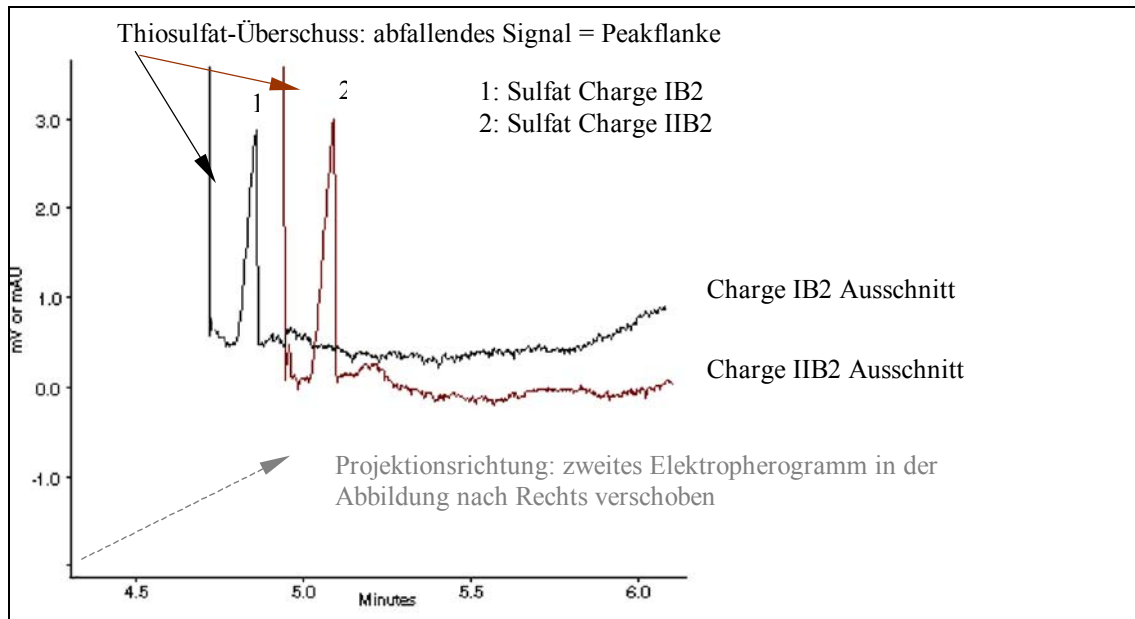


Abb. 87 PMA/DETA 3 mmol/L / 2 mmol/L, pH 7,5, -30 kV, 30 °C, Kapillare 70 cm / 75 µm Injektion 6 sec, Proben: 10 %ige Natriumthiosulfat-Injektionslösungen Chargen IB2 und IIB2 je 1 : 200 verdünnt, stabilisiert, vergrößerter Ausschnitt des Sulfat-Peaks, (projektierte Darstellung zur besseren Sichtbarkeit bei vorliegender Überlappung der Signale – Elektropherogramm Charge IIB2 nach Rechts verschoben).

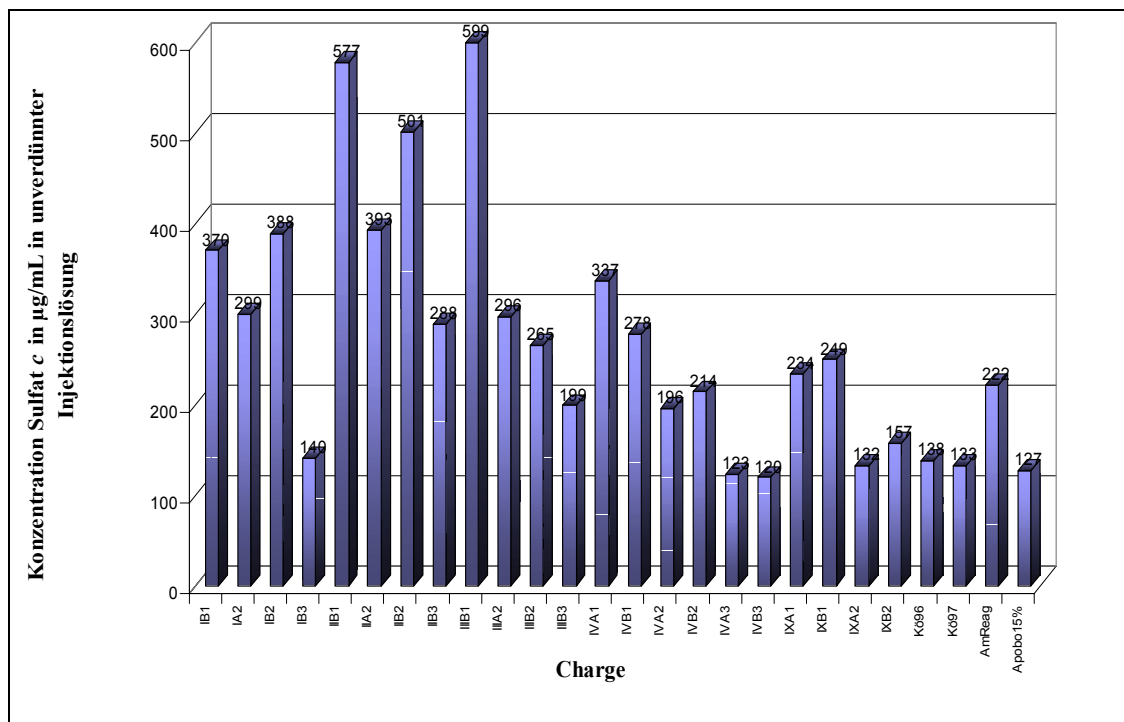


Abb. 88: Konzentration Sulfat in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen, kapillarelektrophoretische Bestimmung Methode CE1.



### 3.2.6 Polarographie

#### 3.2.6.1 Vorversuche zur Methodenentwicklung

Mit Hilfe der Polarographie wurden die voltammetrisch direkt bestimmbaren Ionen Sulfit, Sulfid und Thiosulfat qualitativ und quantitativ bestimmt. Auf Grund der besseren Auswertbarkeit der resultierenden peakförmigen Kurven und der erreichbaren niedrigen Nachweisgrenzen wurde mit der Methode der Differential-Puls-Polarographie gearbeitet. Zunächst wurden die Parameter geeigneter Polarographiesysteme ermittelt. Eine simultane Bestimmung aller drei Ionen ist nur durch einen pH-Wechsel nach vorangegangener alkalischer Sulfidbestimmung zum sauren System für die Bestimmung von Sulfit und Thiosulfat möglich. Da die vorliegenden Konzentrationsunterschiede eine Simultanbestimmung nicht ermöglichen, wurde dieser Ansatz nicht verfolgt und eine Einzelbestimmung der Ionen erarbeitet.

Zunächst wurde die Polarographie im sauren pH-Bereich für Thiosulfat und Sulfit entwickelt. Die polarographische Bestimmung erfolgte mit DP 50 (Amplitude 50 mV) im Messbereich von 0 V oder -0,3 V bis -1,0 V oder -0,8 V. Als Grundelektrolyt wurde zunächst mit 20 mL Reinstwasser unter Zugabe von 1 mL 2 mol/L NaOH und 2 mL 2 mol/L Essigsäure gearbeitet. Das entspricht einem Acetatpuffersystem mit dem pH-Wert von  $\approx 4,75$  ( $pK_s$  der Essigsäure). Vor jeder ersten Messung wurde 5 min mit Stickstoff entlüftet, um eine Oxidation des Sulfits zu unterdrücken.

Zur Identifizierung wurde die jeweilige charakteristische Peak-Spannung der einzelnen Ionen bestimmt. Unter den gewählten Bedingungen liegen diese für Thiosulfat bei etwa -0,14 V, für Sulfit bei etwa -0,58 V. Sulfid wird bei diesem pH-Wert auf Grund des hohen  $pK_s$  Wertes von  $H_2S / HS$  nicht quantitativ polarographiert. Es kann ein Peakstrom bei etwa -0,40 V beobachtet werden.

Das resultierende Polarogramm von je 40  $\mu\text{g/mL}$  Sulfit und Thiosulfat zeigt eine sehr gute Signalauflösung und Konstanz der Stromantwort. Es wurde im Weiteren überprüft, ob diese Bedingungen auch für die vorgesehene Bestimmung von Sulfit neben einem hohen Thiosulfat-Überschuss geeignet sind. Dazu wurde eine Bestimmung des Blindwertes einer Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL vorgenommen und mehrfach vermessen.

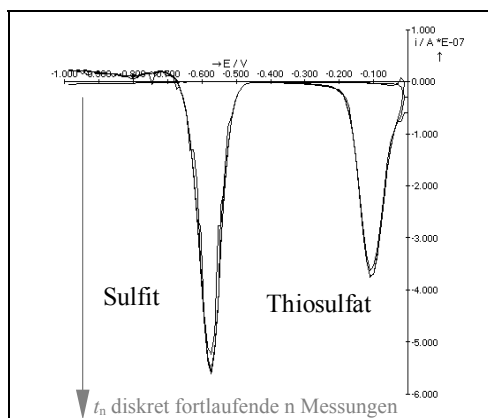


Abb. 89: Polarogramm von 40  $\mu\text{g/mL}$  Thiosulfat und 40  $\mu\text{g/mL}$  Sulfit in Wasser,  $n = 3$  Messungen.

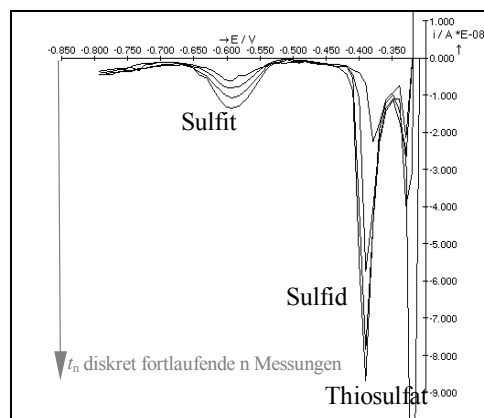


Abb. 90: Polarogramm von 2 mL Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL ( $\approx 4000 \mu\text{g/mL}$  Thiosulfat),  $n = 4$  Messungen.

Nach Zugabe der undotierten Thiosulfat-Stammlösung wurde nach kurzem Mischen umgehend polarographiert, wobei Sulfit bereits bei der ersten Messung erkennbar war. Eine wiederholte Messung zeigte die umgehend einsetzende Zersetzung von Thiosulfat zu Sulfit und Sulfid. Somit ist zu berücksichtigen, dass Sulfit bereits in der Stammlösung in geringen Konzentrationen als Verunreinigung vorhanden sein kann und dass bei hohen Thiosulfat-Konzentrationen im Grundelektrolyten während der kurzen Mischphase Sulfit entsteht. Die Zersetzung von Thiosulfat zu Sulfit und Sulfid im sauren Milieu geht bei hohen Thiosulfat-Konzentrationen derart rasch von statten, dass bei vier aufeinander folgenden Messungen eine Zunahme der registrierten Peakströme zu beobachten ist. Beim Vermessen der 40  $\mu\text{g/mL}$  Thiosulfat-Lösung wurde der Zersetzungseffekt nicht in diesem Ausmaß beobachtet.

Im Folgenden wurde der pH-Wert des Grundelektrolyten variiert mit pH-Werten von pH 4,6, pH 5,0 und pH 5,5. Dabei wurde deutlich, dass bereits eine Erhöhung des pH-Wertes auf 5,0 mit einer deutlichen Verringerung der Zersetzung einhergeht, die bei weiterer Erhöhung des pH-Wertes nur noch unwesentlich verändert wird. Entsprechend wurde für die vorgenommenen Bestimmungen der pH-Wert angepasst und bei einem pH-Wert von 5,0 polarographiert.

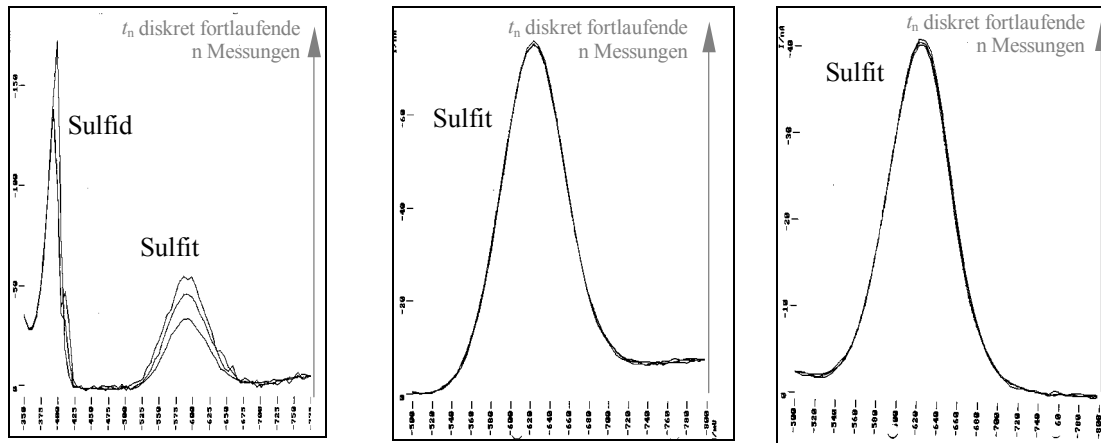


Abb. 91 a bis c: Ausschnitte der Polarogramme von 10 %igen Natriumthiosulfat-Lösungen (1 : 5 verdünnt,  $\approx 9000 \mu\text{g/mL}$  Thiosulfat) mit Sulfit dotiert bei verschiedenen pH-Werten des Grundelektrolyten a) +  $3,5 \mu\text{g/mL}$  Sulfit, pH 4,6; b) +  $15 \mu\text{g/mL}$  Sulfit, pH 5,0; c) +  $10 \mu\text{g/mL}$  Sulfit pH 5,5, je  $n = 3$  Messungen.

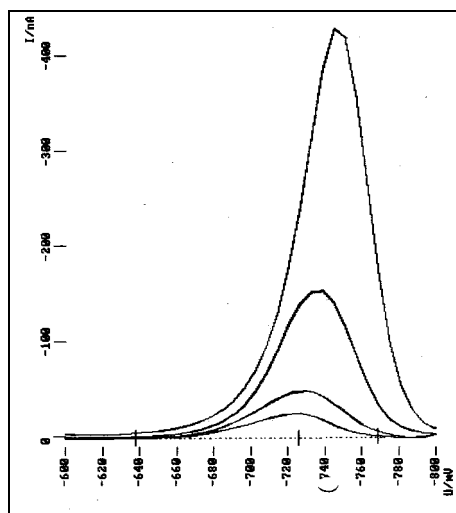


Abb. 92: Polarogramme von 4 verschiedenen Konzentrationen Sulfid  $0,5 \mu\text{g/mL}$  bis  $8 \mu\text{g/mL}$  matrixfrei.

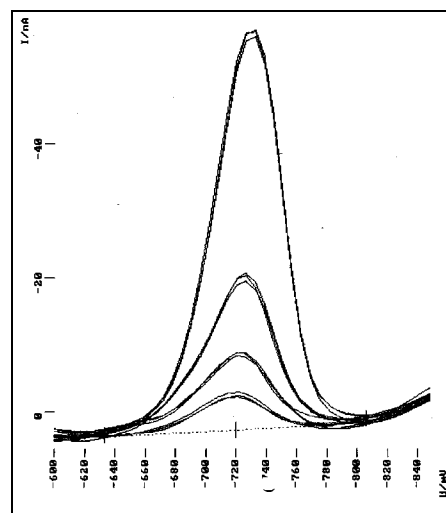


Abb. 93: Polarogramme von 4 verschiedenen Konzentrationen Sulfid  $0,1 \mu\text{g/mL}$  bis  $1 \mu\text{g/mL}$  in 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung (1 : 5 verd.).

Von Sulfid liegt im sauren pH-Bereich nur ein Teil als gelöstes Ion vor. Für eine quantitative Bestimmung ist hier ein alkalischer pH-Wert notwendig. Dazu wurde als Grundelektrolyt eine  $0,1 \text{ mol/L}$  Natriumhydroxid-Lösung verwendet. Es wurde im Bereich von  $-0,5 \text{ V}$  bis  $-0,8 \text{ V}$  polarographiert. Der Peakstrom von Sulfid resultiert bei etwa  $-0,72 \text{ V}$ .

### 3.2.6.2 Parameter der Bestimmung von Sulfit

Für die Bestimmung von Sulfit neben hohen Konzentrationen Thiosulfat wurde entsprechend der Vorversuche in saurem Acetatspuffer bei pH 5,0 gearbeitet. Der Grundelektrolyt wurde vorab hergestellt und mit eingestelltem pH-Wert vorgelegt. Das Gesamtvolumen von Vorlage und Probenlösung betrug 25,00 mL. Auf Grund der nicht zu vernachlässigenden Zersetzung des Thiosulfats in saurer Lösung erfolgte die Kalibrierung von Sulfit in äquivalenter Natriumthiosulfat-Matrix. Um die Oxidation des Sulfits zu verringern, wurde das Reinstwasser für die Stammlösungen mit Stickstoff begast.

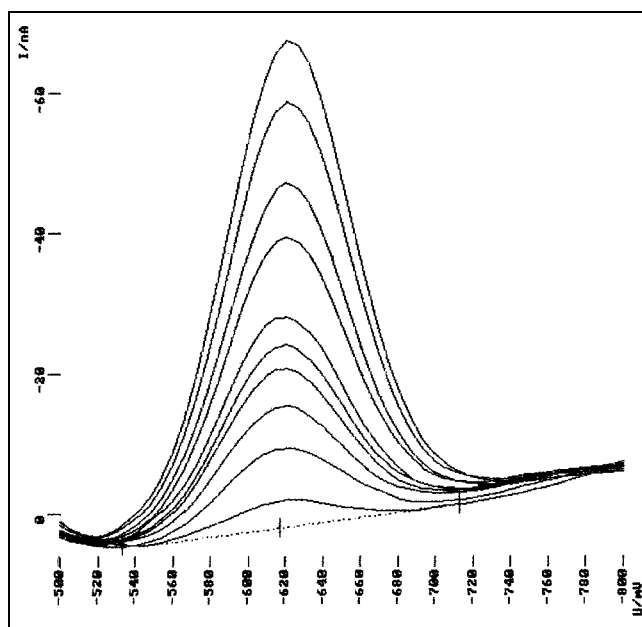


Abb. 94: Beispiel Polarogramme von 10 verschiedenen Konzentrationen Sulfit, Kalibrierung 1  $\mu\text{g/mL}$  bis 35  $\mu\text{g/mL}$  in 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung (1:5 verd.).

Die Stammlösungen wurden regelmäßig frisch hergestellt. Für die Verdünnungsreihen wurden abgestufte Konzentrationen von Sulfit mit einer Natriumthiosulfat-Stammlösung versetzt und mit Wasser aufgefüllt, so dass die gewünschte Sulfit-Konzentration in einer Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL oder 25 g / 100 mL vorlag. Von diesen Probenlösungen wurden jeweils 5,00 mL zum entlüfteten Grundelektrolyten zugegeben, gemischt und im Bereich von -500 mV bis -800 mV polarographiert [Methode DPP1].

Die Auswertung der Kalibrierung erfolgte über die konzentrationsabhängige Höhe des Peakstroms. Mit der Kalibrierung wurde der Bereich von 0,5 µg/mL oder 1,0 µg/mL nahe der Nachweisgrenze bis maximal 35 µg/mL abgedeckt, berechnet auf die unverdünnten Natriumthiosulfat-Lösungen 10 g / 100 mL oder 25 g / 100 mL. Unter Berücksichtigung der vorgenommenen Verdünnung betrug die Konzentration im Polarographiegefäß 100 ng/mL bis 7 µg/mL. Der Zusammenhang kann mit einem linearen Modell beschrieben werden, ein Residuenplot ergab keinen Hinweis auf einen nichtlinearen Zusammenhang.

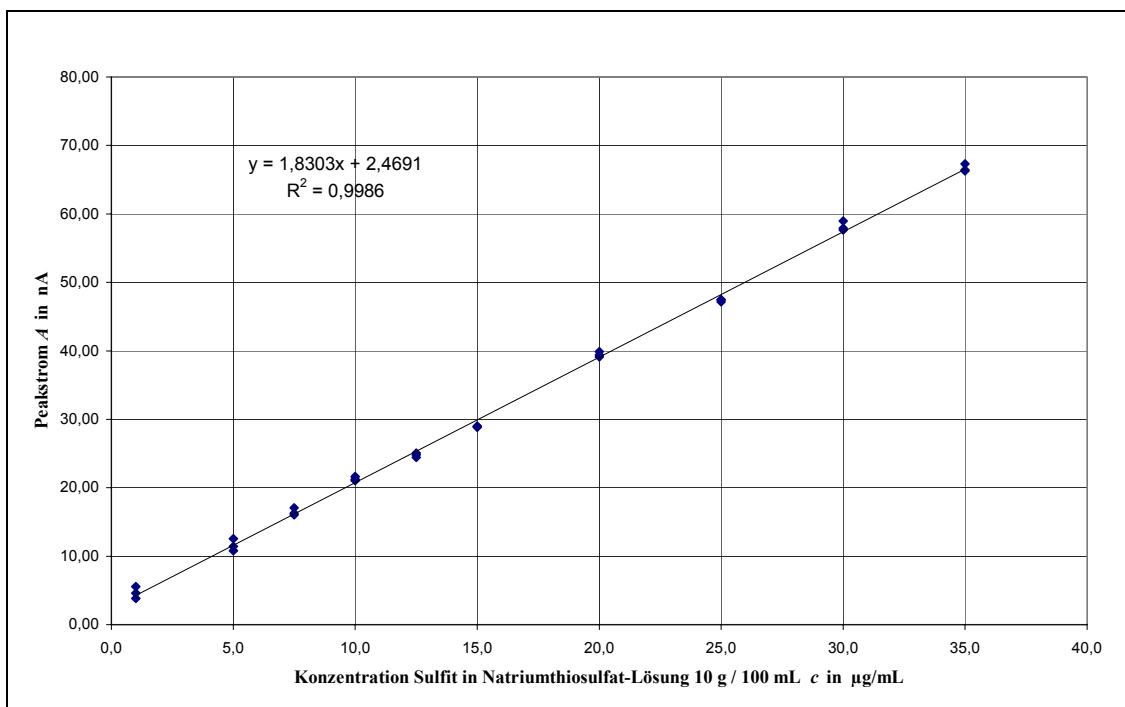


Abb. 95: Beispiel für Kalibrierung von Sulfid neben Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL mit polarographischer Bestimmung Kal\_3.

Da unter Wiederholbedingungen die Steigungen und die Achsenabschnitte von Testkalibrierungen signifikant verschieden waren, wurde für jede Proben-Messserie eine neue gültige Kalibrierung durchgeführt und die Richtigkeit mit Standardlösungen bestimmt. Es wurden für Sulfid neben Natriumthiosulfat-Lösungen 10 g / 100 mL und 25 g / 100 mL separate Kalibrierungen durchgeführt, da in Lösung mit 25 g / 100 mL im Vergleich zur Lösung mit 10 g / 100 mL der Zersetzungsgrad des Thiosulfats zu Sulfid und Sulfid größer ist (Kal\_2 bis Kal\_5 für 10 g / 100 mL; Kal\_6 für 25 g / 100 mL).

Die Steigung der Kalibrierfunktionen ist signifikant. Die entsprechenden Achsenabschnitte sind ebenfalls signifikant ( $VK_a$  zwischen 9 % und 22 %) und entsprechen mit guter Übereinstimmung den jeweils bestimmten Blindwerten. Die

Korrelationskoeffizienten liegen zwischen 0,9932 und 0,9993, die Korrelationen sind hoch signifikant ( $P < 0,0005$ ). Es werden zwischen 97,2 % und 99,8 % der Gesamtstreuung durch die gefundenen Modelle erklärt. Die relativen Verfahrensstandardabweichungen liegen zwischen 2,6 % und 10,2 % für die Lösungen mit 10 g / 100 mL und bei 13,9 % für die Lösungen mit 25 g / 100 mL.

Tab. 31: Grenzwerte der Kalibrierung bezogen auf die unverdünnte Natriumthiosulfat-Lösung.

	<i>Kal_2</i>	<i>Kal_3</i>	<i>Kal_4</i>	<i>Kal_5</i>	<i>Kal_6</i>	Einheit
$\Delta a$	0,47	0,86	2,12	2,12	6,79	nA
$y_k$	1,97	3,33	5,34	6,34	33,04	nA
$x_{NG}$	0,39	0,47	1,04	1,23	2,99	$\mu\text{g/mL}$
$x_{EG}$	0,77	0,94	2,09	2,46	5,97	$\mu\text{g/mL}$
$x_{BG}$	1,36	1,67	3,68	4,17	9,72	$\mu\text{g/mL}$

Die mittlere relative Standardabweichung der Höhe des Peakstroms beträgt etwa 7 % für Sulfit in Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL und 8,5 % beim Vermessen von Natriumthiosulfat-Lösungen 25 g / 100 mL. Bei vergleichbaren Bedingungen und nicht signifikantem Unterschied in Steigung und Achsenabschnitt vergrößert sich die relative Standardabweichung unter Wiederholbedingungen nicht.

Die niedrigste Bestimmungsgrenze für Sulfit in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung beträgt 1,36  $\mu\text{g/mL}$  ( $f = 22$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Bei Reduktion der Probenzahl und des Kalibrierbereiches für Proben mit höherem Sulfitgehalt wurden Bestimmungsgrenzen von 3,68  $\mu\text{g/mL}$  bis 4,17  $\mu\text{g/mL}$  erreicht ( $f = 10$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Unter Berücksichtigung der vorgenommenen Verdünnung von 1 : 5 entspricht die niedrigste Bestimmungsgrenze 0,27  $\mu\text{g/mL}$  Sulfit neben 20 mg/mL Natriumthiosulfat. Bezogen auf das Anion entspricht das einem Verhältnis von etwa 1 : 33000 Sulfit:Thiosulfat. Die Bestimmungsgrenze für Sulfit in einer 25 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung bei reduziertem Kalibrierungsaufwand beträgt 9,72  $\mu\text{g/mL}$  ( $f = 7$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ). Die Nachweisgrenze für Sulfit in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung liegt je nach Kalibrierung zwischen 0,39  $\mu\text{g/mL}$  und 1,23  $\mu\text{g/mL}$  in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung und 2,99  $\mu\text{g/mL}$  in einer 25 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung. Das entspricht Probenkonzentrationen von 80 ng/mL bis 600 ng/mL.

Der mittlere prozentuale Fehler der Wiederfindung beträgt 2,3 %, die höchste relative Abweichung betrug -14 %. Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt für Lösungen 10 g / 100 mL etwa 4,5 % und 14,7 % für Lösungen 25 g / 100 mL. Das entspricht einer Abweichung von etwa  $\pm 0,3 \mu\text{g/mL}$  respektive  $\pm 1,5 \mu\text{g/mL}$ .

### 3.2.6.3 Vermessen von Realproben

Für jede Messserie wurde eine neue Kalibrierung durchgeführt und deren Gültigkeit mit Hilfe von Standardlösungen laufend überprüft. Entsprechend der Vorgehensweise bei der Kalibrierung wurden die Ampullenlösungen bezogen auf die Vorlage 1:5 verdünnt. Die Vorlage wurde vor Probenzugabe entgast. Die Proben wurden nach kurzem Durchmischen sofort vermessen.

Die Bestimmung wurde als unabhängige Doppelbestimmung mit je drei Messungen durchgeführt. Für jede Messserie wurde ein Blindwert mehrfach bestimmt und mit dem Blindwert der Kalibrierung hinsichtlich Übereinstimmung verglichen. Der Gehalt der Injektionslösungen wurde mit der jeweils gültigen Kalibrierfunktion über die Höhe des Peakstroms ermittelt. Bei Sulfitkonzentrationen oberhalb des Kalibrierbereiches wurde ein aliquoter Teil der Probe abgenommen und mit Natriumthiosulfat-Stammlösung wieder auf den entsprechenden Gehalt an Thiosulfat eingestellt und vermessen.

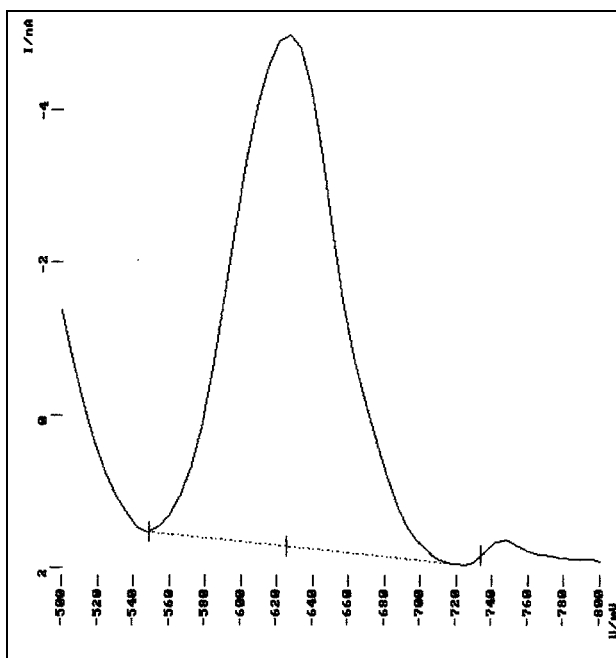


Abb. 96: Polarogramm von Sulfit in einer 1 : 5 verdünnten 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung Charge IIA2, Methode DPP1.

Für die 10 %igen Injektionslösungen wurden Sulfitkonzentrationen von nicht nachweisbaren Mengen (unterhalb der Nachweisgrenze von  $0,39 \mu\text{g/mL}$ ) bis zu  $23 \mu\text{g/mL}$  gefunden. Für die 25 %igen Injektionslösungen wurden Sulfitkonzentrationen zwischen  $4,5 \mu\text{g/mL}$  und  $58 \mu\text{g/mL}$  bestimmt.

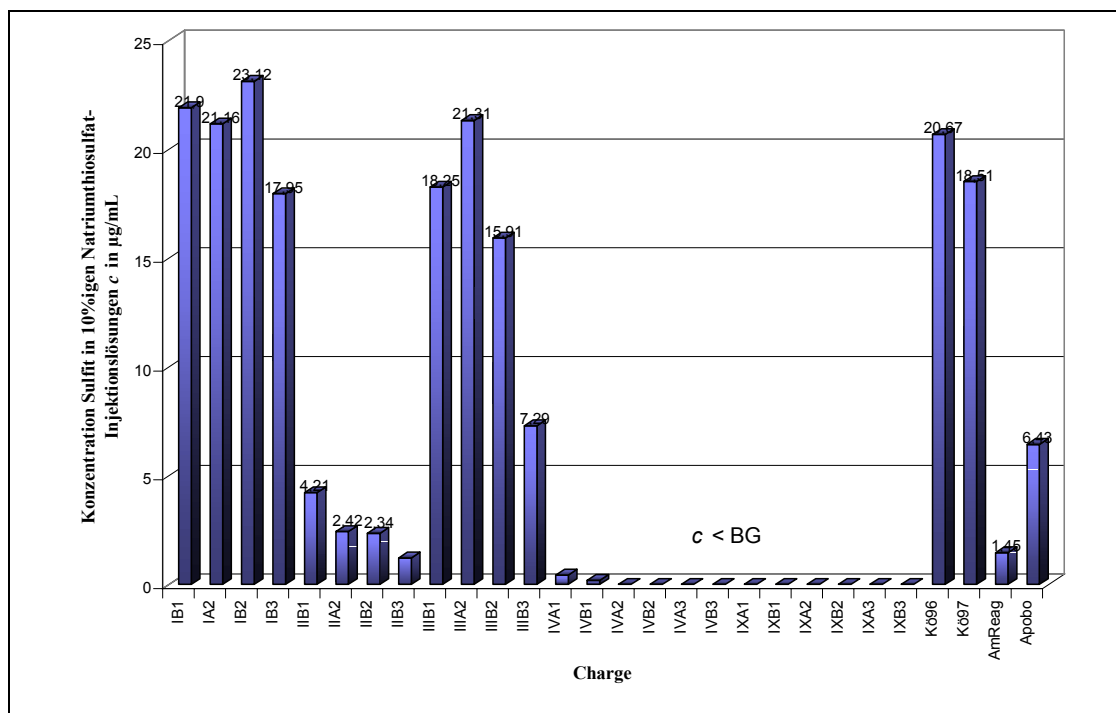


Abb. 97: Konzentration Sulfit in den 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen, Methode DPP1.

In den alkalisch stabilisierten Lösungen eigener Herstellung ohne Sulfitzusatz konnte meist kein Sulfit nachgewiesen werden. In den Handelspräparaten wurde jedoch Sulfit quantifiziert. In den Ampullen der Rezeptur I und III wurden die höchsten Konzentrationen Sulfit nachgewiesen. Der gefundene Gehalt an Sulfit in der 25 %igen Infusionslösung der Fa. Köhler, die kurz nach ihrer Herstellung (1998) vermessen wurde, korreliert mit dem Zusatz von 100 mg Natriumdisulfit laut Rezeptur. Es müssten bei 100 % Wiederfindung etwa  $54 \mu\text{g/mL}$  Sulfit nachgewiesen werden. Es wurden  $57,9 \mu\text{g/mL}$  ( $\pm 2,8 \mu\text{g/mL}$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $n = 10$ ,  $m = 3$ ) quantifiziert.



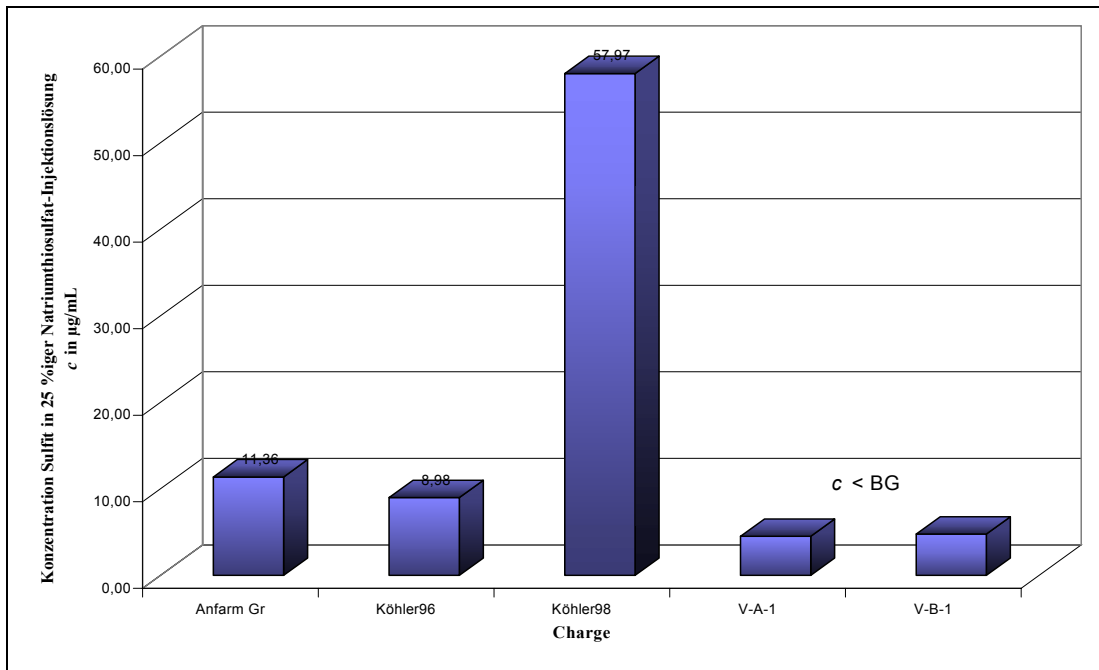


Abb. 98: Konzentration Sulfid in den 25 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen mit DPP1 bestimmt.

#### 3.2.6.4 Parameter der Bestimmung von Thiosulfat

Für die Quantifizierung von Thiosulfat wurde analog zur Sulfidbestimmung in saurem Acetatpuffer bei pH 5,0 gearbeitet. Das Volumen der Vorlage betrug 20,00 mL. Es wurde jeweils 1,00 mL Probenlösung zum entgasten Grundelektrolyten zugegeben und von 0 mV bis -600 mV polarographiert. Die Stammlösungen von Natriumthiosulfat wurden frisch hergestellt [Methode DPP2].

Die Auswertung der Kalibrierung erfolgte über die konzentrationsabhängige Höhe des Peakstroms. Da eine Auswanderung des Peaks zu positiveren Potentialen bei zunehmenden Konzentrationen zu verzeichnen war, wurde für die Auswertung der Peakstrom im Peakmaximum zu Grunde gelegt. Mit den Kalibrierungen wurden die Konzentrationsbereiche von 10 µg/mL bis 40 µg/mL oder 40 µg/mL bis 60 µg/mL abgedeckt.

Die Natriumthiosulfat-Injektionslösungen wurden so verdünnt, dass sie entsprechend der Erwartungskonzentration im mittleren Bereich der Kalibrierfunktion von etwa 45 µg/mL bzw. 22,5 µg/mL vermessen werden konnten. Der ermittelte Zusammenhang von Peakstrom und Konzentration entspricht einem linearen Modell, da ein Residuenplot keinen Hinweis auf einen nichtlinearen Zusammenhang ergab.

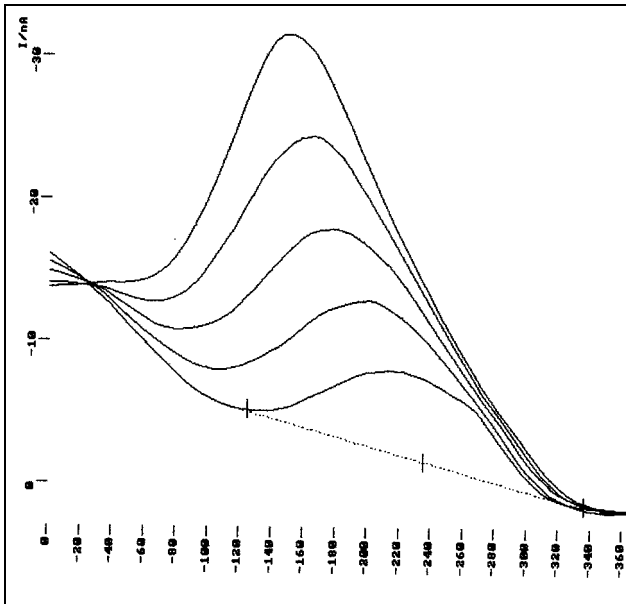


Abb. 99: Beispiel Polarogramme von verschiedenen Konzentrationen Thiosulfat von 20 µg/mL bis 60 µg/mL DPP2.

Es wurden zu verschiedenen Zeitpunkten zwei Kalibrierungen mit unterschiedlichen Konzentrationsbereichen für verschiedene Verdünnungen durchgeführt. Der Hauptteil der Bestimmungen erfolgte mit einer Kalibrierung für den Bereich von 10 µg/mL bis 40 µg/mL. Die Kalibrierungen sind hinsichtlich Steigung und Achsenabschnitt signifikant verschieden. Entsprechend wurde für jede Messserie eine gültige Kalibrierung erstellt.

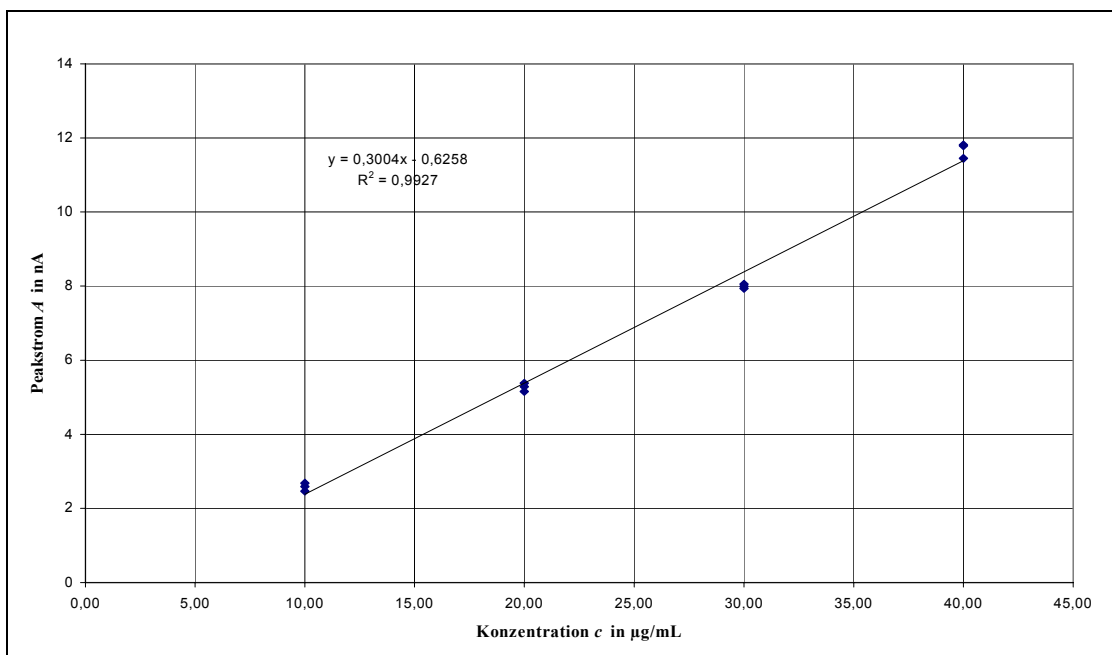


Abb. 100: Kalibrierung von Thiosulfat mit polarographischer Bestimmung Methode DPP2.

Die Steigungen der Kalibrierfunktionen sind signifikant ( $VK_b = 2,7\%$  und  $3,0\%$ ). Der Achsenabschnitt der Kalibrierung von  $10\text{ }\mu\text{g/mL}$  bis  $40\text{ }\mu\text{g/mL}$  ist nicht signifikant ( $VK_a \approx 5\%$ ), der Achsenabschnitt der Kalibrierung von  $40\text{ }\mu\text{g/mL}$  bis  $60\text{ }\mu\text{g/mL}$  ist signifikant ( $VK_a \approx 8\%$ ). Die Korrelationskoeffizienten betragen  $0,9963$  und  $0,9967$ , die Korrelationen sind hoch signifikant ( $P < 0,0005$ ). Es sind  $99,3\%$  der Gesamtstreuung durch die gefundenen Modelle erklärbar.

Die relativen Verfahrensstandardabweichungen der Kalibrierungen betragen  $4,2\%$  und  $1,5\%$ . Die mittleren relativen Standardabweichungen des Peakstroms betragen im Mittel  $2,2\%$  bzw.  $1,0\%$ , unter Wiederholbedingungen  $3,2\%$ .

Tab. 32: Grenzwerte der Kalibrierung.

	<i>Kal_1</i>	<i>Kal_2</i>	Einheit
$\Delta a$	0,52	1,77	nA
$y_k$	$0,52^{*)}$	$1,77^{*)}$	nA
$x_{NG}$	1,74	3,07	$\mu\text{g/mL}$
$x_{EG}$	3,48	6,15	$\mu\text{g/mL}$
$x_{BG}$	5,80	9,61	$\mu\text{g/mL}$

<sup>\*)</sup> berechnet für  $a = 0$ , da Intercept negativ

Die Bestimmungsgrenzen betragen  $5,8\text{ }\mu\text{g/mL}$  ( $c_{\text{Erwart.}} 22,5\text{ }\mu\text{g/mL}$ ) ( $f = 10$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ) bzw.  $9,6\text{ }\mu\text{g/mL}$  ( $c_{\text{Erwart.}} 45\text{ }\mu\text{g/mL}$ ) ( $f = 7$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $k = 3$ ) und limitieren die Bestimmung nicht. Die Nachweisgrenzen betragen  $1,7\text{ }\mu\text{g/mL}$  und  $3,1\text{ }\mu\text{g/mL}$ .

Der mittlere prozentuale Fehler der Wiederfindung beträgt  $0,5\%$ . Die mittlere Wiederfindung liegt bei  $99,5\%$  bzw.  $99,3\%$ . Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt  $2,6\%$  bzw.  $2,7\%$ . Das entspricht einem  $95\%$  Vertrauensintervall von etwa  $\pm 1,4\text{ }\mu\text{g/mL}$  bzw.  $\pm 2,2\text{ }\mu\text{g/mL}$ . Bezogen auf die Gehaltsangabe einer  $10\%$ igen Injektionslösung entspricht das im Mittel einem Vertrauensbereich von  $\pm 0,6\%$  Natriumthiosulfat-Pentahydrat. Für eine  $25\%$ ige Injektionslösung ist dieses Intervall auf Grund der höheren Verdünnung größer und beträgt etwa  $\pm 1,6\%$  Natriumthiosulfat-Pentahydrat.



Injektionslösungen + 5,0 %. Die geringste Abweichung betrug für eine 10 %ige Injektionslösung + 0,4 %. Generell weichen alle bestimmten Konzentrationen nach oben vom deklarierten Gehalt ab. Die Abweichungen bei vermessenen Handelspräparaten fallen meist geringer aus.

### 3.2.6.6 Parameter der Bestimmung von Sulfid

Die Bestimmung von Sulfid wurde in alkalischem Milieu durchgeführt. Als Grundelektrolyt wurden 20,00 mL einer 0,1 mol/L Natriumhydroxid-Lösung vorgelegt und mit Stickstoff entlüftet. Das Gesamtvolumen von Vorlage und Probenlösung betrug 25,00 mL. Auf Grund möglicher Beeinflussung der hohen Thiosulfat-Konzentration erfolgte die Kalibrierung in äquivalenter Natriumthiosulfat-Matrix. Um die Oxidation und die Evaporation des Sulfids zu verringern, wurde Sulfid in mit Stickstoff begaster 0,4 mol/L NaOH gelöst. Die Stammlösungen wurden regelmäßig frisch hergestellt.

Für die Verdünnungsreihen wurden abgestufte Konzentrationen von Sulfid mit einer Natriumthiosulfat-Stammlösung versetzt und mit Stickstoff-begastem Reinstwasser aufgefüllt. Die gewünschte Sulfidkonzentration lag somit in einer Natriumthiosulfat-Lösung mit 10 g / 100 ml oder mit 25 g / 100 ml vor. Von diesen Probenlösungen wurden jeweils 5,00 mL zum entlüfteten Grundelektrolyten zugegeben, gemischt und sofort im Bereich von –500 mV bis –900 mV polarographiert (Methode DPP3).

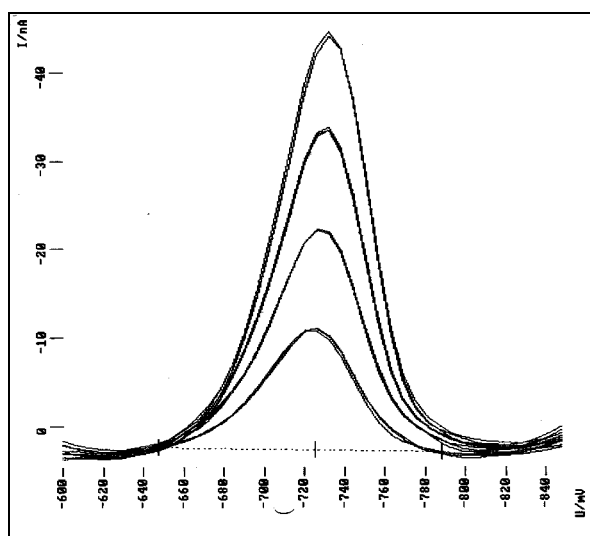


Abb. 102: Polarogramme von verschiedenen Konzentrationen Sulfid: 250 ng/mL bis 1 µg/mL in 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung (1 : 5 verd.) Methode DPP3.

Die Auswertung erfolgte über die konzentrationsabhängige Höhe des Peakstroms. Für die Kalibrierung wurde der Bereich von 50 ng/mL bis zu maximal 1,0 µg/mL vermessen, bezogen auf die unverdünnte Natriumthiosulfat-Lösung. Unter Berücksichtigung der vorgenommenen Verdünnung betrugen die absoluten Konzentrationen im Gefäß 10 ng/mL bis 200 ng/mL. Der Zusammenhang zwischen resultierender Peakstrom-Höhe und Sulfid-Konzentration kann mit einem linearen Modell beschrieben werden. Es gab keinen Hinweis auf einen nichtlinearen Zusammenhang.

Da bei Wiederholung die Achsenabschnitte von Testkalibrierungen teilweise signifikant verschieden waren, wurde für jede Proben-Messserie eine separate gültige Kalibrierung durchgeführt. Die Richtigkeit wurde mit Standardlösungen bestimmt. Es wurden mehrere Kalibrierungen für Sulfid in Natriumthiosulfat-Lösungen 10 g / 100 mL (Kal\_2 bis Kal\_5) und Natriumthiosulfat-Lösungen 25 g / 100 mL (Kal\_6) sowie zusätzliche Testkalibrierungen durchgeführt.

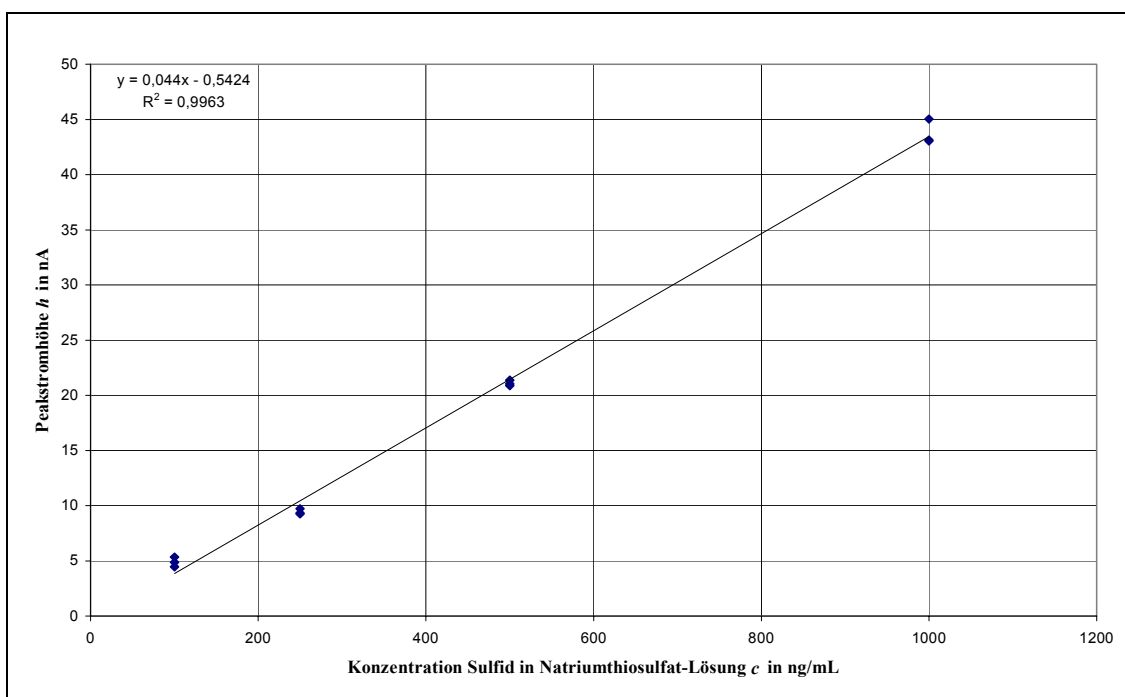


Abb. 103: Beispiel Kalibrierkurve für die Sulfidbestimmung in Natriumthiosulfat-Lösung 10 g / 100 mL, Methode DPP3; KAL\_4.

Die Steigungen der Kalibrierfunktionen sind hoch signifikant. Die entsprechenden Achsenabschnitte sind teilweise signifikant von Null verschieden ( $VK_a$  zwischen 7,6 % und 13,6 %), teilweise nicht signifikant ( $VK_a$  zwischen 40,5 % und 90 %). Sie liegen in der Größenordnung der jeweils bestimmten Blindwerte. Die Korrelationskoeffizienten

liegen zwischen 0,9904 und 0,9981, die Korrelationen sind hoch signifikant ( $P < 0,0005$ ). Es sind zwischen 98,1 % und 99,6 % der Gesamtstreuung durch die linearen Modelle erklärt. Die relativen Verfahrensstandardabweichungen liegen zwischen 4,0 % und 9,9 % für die 10 %igen Lösungen und bei 3,9 % für die 25 %igen Lösungen. Die mittlere relative Standardabweichung der Peakstrom-Höhe beträgt 4,1 % und unter Wiederholbedingungen 5,4 %.

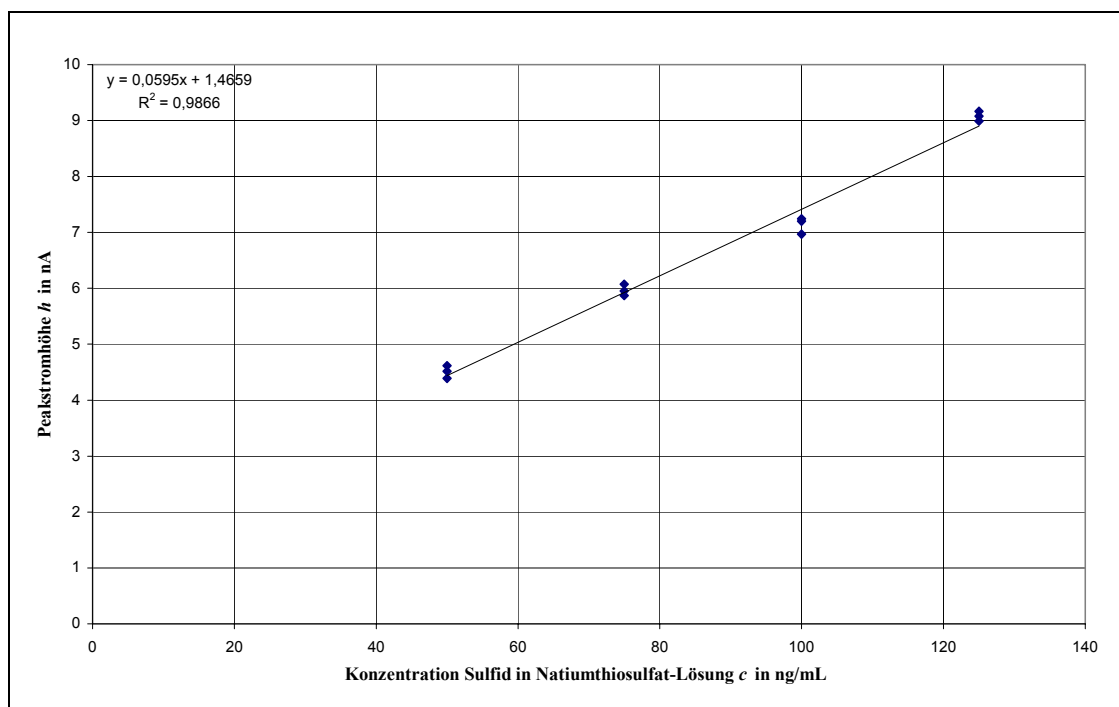


Abb. 104: Beispiel Kalibrierkurve für die Sulfidbestimmung in Natriumthiosulfat-Lösung 25 g / 100 mL, Methode DPP3; KAL\_6.

Die ermittelten Nachweisgrenzen, bezogen auf die unverdünnten Natriumthiosulfat-Lösungen, liegen je nach Umfang der Kalibrierung zwischen 4,2 ng/mL und 32 ng/mL. Die Bestimmungsgrenzen liegen entsprechend zwischen 51 ng/mL und 110 ng/mL.

Tab. 33: Grenzwerte der Kalibrierung in unverdünnter Natriumthiosulfat-Lösung.

	<i>Kal_2</i>	<i>Kal_3</i>	<i>Kal_4</i>	<i>Kal_5</i>	<i>Kal_6</i>	Einheit
$\Delta a$	0,81	1,37	0,44	0,69	0,25	nA
$y_k$	1,61	1,37	2,61	2,30	1,71	nA
$x_{NG}$	19,1	31,2	10,5	16,8	4,2	ng/mL
$x_{EG}$	38,1	62,4	21,0	33,7	8,3	ng/mL
$x_{BG}$	103,9	109,6	56,9	55,0	50,5	ng/mL

Der mittlere prozentuale Fehler der Wiederfindung beträgt etwa 10 %. Die höchste relative Abweichung von der Einwaage betrug 19,7 % für Natriumthiosulfat-Lösungen 10 g / 100 mL und 12,2 % bei der Bestimmung in den Lösungen mit 25 g / 100 mL. Die relative Standardabweichung des Gehalts beträgt im Mittel 4,7 % für 10 %ige Injektionslösungen und 3,6 % für 25 %ige Injektionslösungen.

### 3.2.6.7 Vermessen von Realproben

Der Gehalt an Sulfid wurde bei jeder Messserie über die Höhe des Peakstroms mit der Gleichung aus der jeweils gültigen Kalibrierung berechnet. Die Richtigkeit wurde unter Verwendung von Standardlösungen überprüft. Die Bestimmung wurde als unabhängige Doppelbestimmung mit je drei Messungen durchgeführt. Die Vorgehensweise erfolgte analog dem Vermessen der Lösungen der Kalibrierung.

Die gemessenen Sulfidkonzentrationen bewegen sich bei den meist sehr alkalisch stabilisierten Lösungen und allen Handelspräparaten unterhalb der Nachweisgrenzen der jeweiligen Kalibrierung ( $c_{\text{in } 10 \%} < 10,5 \text{ ng/mL}$  und  $< 16,5 \text{ ng/mL}$ ,  $c_{\text{in } 25 \%} < 4,2 \text{ ng/mL}$ ). Für alle anderen Präparate wurden Konzentrationen oberhalb der Erfassungsgrenze von 62 ng/mL oder oberhalb der Bestimmungsgrenzen von 107 ng/mL und 109 ng/mL gefunden.

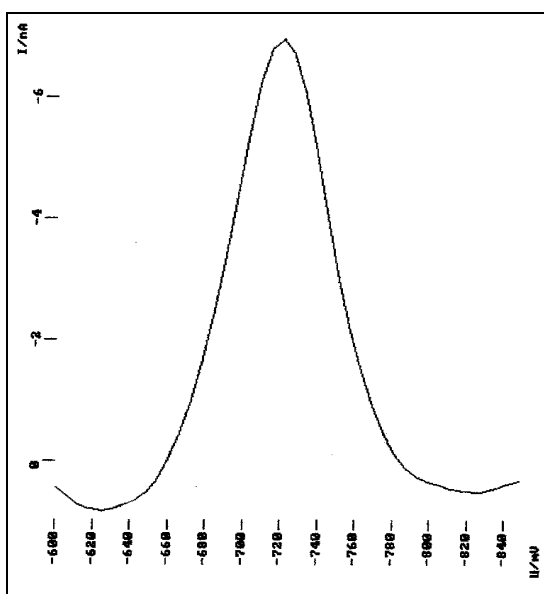


Abb. 105: Polarogramm von Sulfid in einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung Charge IIA2, (effektiv im Gefäß 1 : 5 verdünnt), Methode DPP3.



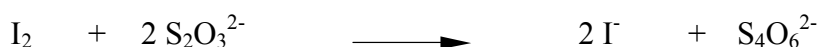


### 3.2.7 Biamperometrische Gehaltsbestimmung von Thiosulfat

#### 3.2.7.1 Parameter der Bestimmung

Die Bestimmung des Gehalts von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen erfolgte durch iodometrische Titration mit biamperometrischer Endpunktanzeige. Das Prinzip der Titration beruht auf der Oxidation von Thiosulfat zu Tetrathionat durch Iod, welches zu Iodid reduziert wird.

Bei Vorlage des elektrochemisch inaktiven Thiosulfats und Titration mit Iodmaßlösung resultiert bis zum Äquivalenzpunkt kein Stromfluss an den polarisierbaren Elektroden. Mit dem Überschreiten des Äquivalenzpunktes bleibt zugegebenes Iod unreduziert und das reversible Redoxpaar Iod / Iodid wird elektrochemisch an den Elektroden umgesetzt. Ein Stromfluss im Diffusionsgrenzstrombereich setzt ein, der bei weiterer Zugabe von Iod linear ansteigt.



Die Messung erfolgte unter Verwendung von zwei Platinelektroden. Als Titrator wurde eine 0,05 mol/L Iodmaßlösung verwendet. Die Einstellung des Faktors erfolgte jeweils nach den Vorschriften des Europäischen Arzneibuchs und als Mittelwert einer Dreifachbestimmung.

Die Zugabe der Maßlösung erfolgte durch einen Titrationsautomaten in 0,03 mL-Schritten. Als Potentialdifferenz wurde eine Spannung von 400 mV angelegt. Es wurde die Stromstärke in Abhängigkeit vom zugegebenen Volumen an Maßlösung registriert.

Eine Natriumthiosulfat-Lösung mit 10 g / 100 mL weist eine Konzentration von 0,403 mol/L, eine Lösung mit 25 g / 100 mL eine Konzentration von 1,007 mol/L auf. Als Volumen für die Vorlage der Injektionslösungen wurden bei 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen 0,50 mL und bei den 25 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen 0,20 mL festgesetzt. Die Auswahl erfolgte unter dem Gesichtspunkt einer ausreichenden Titrandenzugabe bei trotzdem kurzer Analysendauer. Unter Berücksichtigung des Faktors ergibt sich ein theoretischer Verbrauch von 2,30 mL Maßlösung.

Die Wiederfindung für eine Natriumthiosulfat-Lösung mit 10 g / 100 mL betrug 101,8 % mit einer ermittelten Konzentration von  $10,18 \text{ g / 100 mL} \pm 0,28 \text{ g / 100 mL}$  ( $n = 6$ ). Die Standardabweichung des Volumens an Maßlösung beträgt im Mittel 0,04 mL, die relative Standardabweichung beträgt somit 1,8 % ( $n = 6$ ). Bezogen auf die Berechnung für die Injektionslösungen entspricht das einer mittleren Standardabweichung von  $0,28 \text{ g / 100 mL}$  Natriumthiosulfat-Pentahydrat.

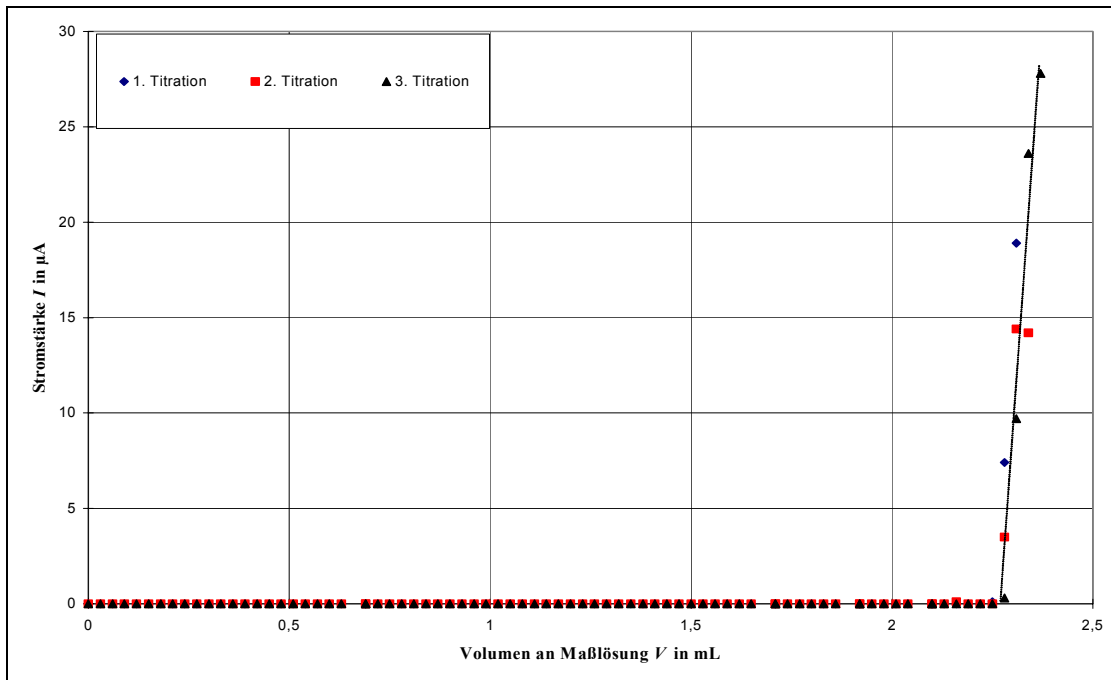


Abb. 107: Beispiel Titrationskurven biamperometrischen Dreifachbestimmung bei iodometrischer Titration einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung, Charge IVB1.

### 3.2.7.2 Vermessen von Realproben

Von jeder Charge wurden drei Messungen von je zwei Ampullen durchgeführt. Es wurde zuvor der pH-Wert der zu titrierenden Lösung bestimmt. Er sollte zwischen pH 8 und pH 6 liegen, um eine stöchiometrische Bestimmung zu gewährleisten. Bei Abweichungen wurde wiederholt nach pH-Wert-Einstellung titriert und verglichen. Es konnten hier keine Abweichungen festgestellt werden. Zur Berechnung wurde jeweils der Mittelwert der sechs Bestimmungen herangezogen.

Die gefundenen Konzentrationen an Natriumthiosulfat-Pentahydrat liegen für die 10 %igen Injektionslösungen zwischen  $8,59 \text{ g / 100 mL}$  und  $10,76 \text{ g / 100 mL}$  Natriumthiosulfat-Pentahydrat. Für die 25 %igen Injektionslösungen wurden Konzentrationen zwischen  $20,55 \text{ g / 100 mL}$  und  $31,05 \text{ g / 100 mL}$  gefunden. Die Standardabweichungen der Bestimmungen liegen, berechnet auf die

Endkonzentrationen, im Mittel bei 0,28 g / 100 mL Natriumthiosulfat-Pentahydrat. In einem Fall trat eine größere Schwankung auf ( $s_c = 2,56$  g / 100 mL).

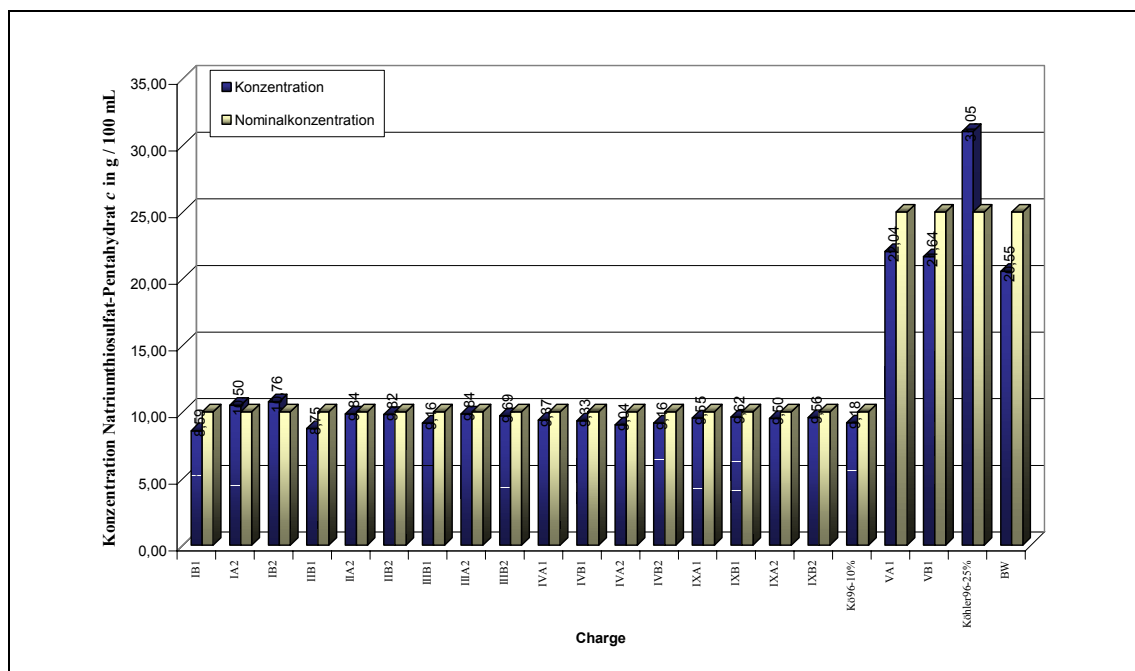


Abb. 108: Konzentration der Injektionslösungen an Natriumthiosulfat-Pentahydrat, bestimmt mit biamperometrischer Titration (Methode Biamp1), verglichen mit Nominalkonzentration.

Die Abweichungen von der Nominalkonzentration sind entsprechend der Standardabweichungen der Bestimmungen teilweise signifikant. Der Gehalt nimmt über die Lagerzeit ab. Sterilisierte Chargen weisen in der Regel eine höhere Zersetzung auf im Vergleich zur parallel sterilfiltrierten Charge. Die geringsten Veränderungen wurden bei den stark alkalisch stabilisierten Ampullen gefunden. Eine zum Zeitpunkt der Bestimmung sieben Jahre alte 25 %ige Injektionslösung mit deutlicher Schwefelabscheidung wies eine absolute Verringerung um - 4,45 g / 100 mL Natriumthiosulfat-Pentahydrat bezogen auf die Nominalkonzentration auf (relativ: 17,8 % der Nominalkonzentration). Eine Betrachtung der sterilisierten Chargen und der entsprechenden sterilfiltrierten Chargen lässt zumeist eine stärkere Abnahme des Gehalts bei den sterilisierten Chargen erkennen. Unter Berücksichtigung der Standardabweichung der Bestimmung lässt sich dieser Unterschied jedoch nicht als signifikant einstufen.

### 3.2.8 Bestimmung der Pufferkapazität durch potentiometrische Titration

#### 3.2.8.1 Parameter der Bestimmung

Mit Hilfe einer Säure-Base-Titration unter Einsatz einer potentiometrischen Endpunktsanzeige wurden die Pufferkapazitäten der einzelnen Injektionslösungen bestimmt. Die Untersuchung erfolgte mit besonderem Augenmerk auf das Potential der Injektionslösungen, pH-Wert-Verschiebungen in den sauren pH-Bereich abzufangen, da in diesem Milieu die Zersetzung von Thiosulfat gefördert wird. Entsprechend der unterschiedlichen Zusammensetzung der Injektionslösungen, aber auch hinsichtlich einer pH-Wert Verschiebung bei Abfüllung, Sterilisation und während der Lagerung können hier unterschiedliche Werte resultieren.

Die Pufferkapazität beschreibt die Größe der Pufferwirkung. Sie kennzeichnet die Aufnahmefähigkeit von Pufferlösungen für Säuren und Basen. Die Pufferwirkung ist begrenzt und abhängig von der Totalkonzentration des Puffergemisches aus z. B. schwacher Säure und dem Salz der korrespondierenden Base. Sie hängt weiterhin ab vom  $pK_s$ -Wert der beteiligten Säure und vom pH-Wert der Lösung. Die Pufferkapazität  $\beta$  wurde definiert als

$$\beta = \frac{dc}{d(pH)} = \frac{+ dc_{(Base)}}{d(pH)} = \frac{- dc_{(Säure)}}{d(pH)}$$

Das bedeutet, wenn sich bei Zusatz von 1 Mol  $H_3O^+$  oder 1 Mol  $OH^-$  zu 1 L einer Pufferlösung der pH-Wert um eine Einheit ändert, entspricht dies einer Pufferkapazität von  $\beta = 1 \text{ mol/L}$ . Für die Beurteilung der Injektionslösungen wurde das Volumen an Maßlösung bis zum Äquivalenzpunkt der Titrationskurve herangezogen. Je größer die Pufferkapazität der Injektionslösung, desto höher der Verbrauch an Maßlösung. Zur Auswertung wurde das Tangentenverfahren verwendet. Es wurden 10,00 mL Natriumthiosulfat-Lösung unverdünnt vorgelegt und titriert. In einem Vorversuch wurde über die Titration von Dinatriumhydrogenphosphat sowie Natriumthiosulfat allein und nebeneinander überprüft, ob die Natriumthiosulfat-Matrix einen Einfluss auf das Ergebnis der Titration hat. Es konnte hierbei kein Unterschied in den

Titrationen festgestellt werden. Bei Verdünnung erfolgt eine Verschiebung der Kurve, die resultierende Pufferkapazität fällt geringer aus.

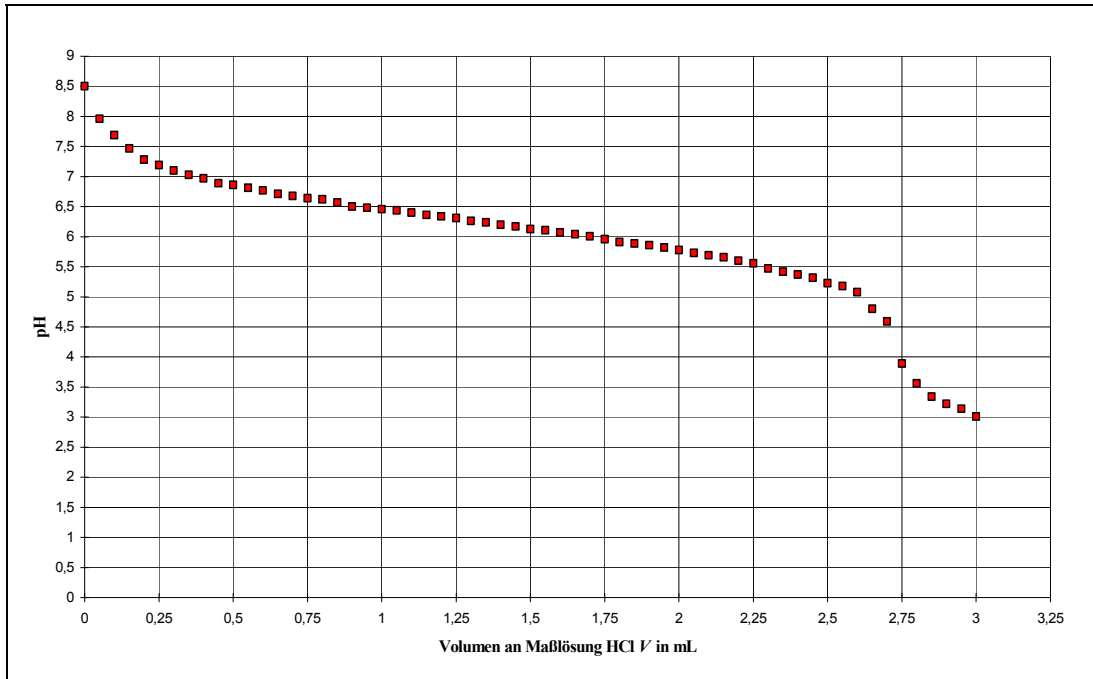


Abb. 109: Titrationskurve einer Lösung von 1 g / 100 mL  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  in einer Natriumthiosulfat-Lösung mit 10 g / 100 mL.

### 3.2.8.2 Vermessen von Realproben und pH-Wert Bestimmung

Entsprechend der Vorgehensweise in den Vorversuchen wurden die 10 %igen Injektionslösungen unverdünnt vorgelegt und mit Salzsäuremaßlösung titriert. Der Kurvenverlauf wurde über die Änderung des pH-Wertes der Lösung in Abhängigkeit vom zugegebenen Volumen an Maßlösung erfasst und ausgewertet. Die Bestimmung erfolgte als Einfachbestimmung. Gleichzeitig wurde zu diesem Zeitpunkt der pH-Wert der Injektionslösungen bestimmt.

Zur Berechnung von  $\beta_1$  wurde die vom Start ( $\text{pH}_i$  pH-Wert vor Beginn der Titration) bis zum ersten Titrationsschritt ( $\text{pH}_{i+1}$  pH-Wert nach Zugabe des ersten Tropfens Maßlösung) resultierende Abnahme des pH-Wertes, die Erhöhung des Gesamtvolumens der Lösung die Konzentration und der Verbrauch an Maßlösung ( $\Delta V_{\text{HCl}} = 0,05 \text{ mL}$ ) herangezogen:

$$\beta_1 = \frac{-1 * (\Delta V_{\text{HCl}} * c_{\text{HCl}} * f_{\text{HCl}})}{V_{\text{ges}} * |\text{pH}_i - \text{pH}_{i+1}|}$$

Die so bestimmten Pufferkapazitäten liegen zwischen 1,4 mmol/L und 2,6 mmol/L für unter galenischen Gesichtspunkten ungepufferte Lösungen und Werten bis zu 9,4 mmol/L für Injektionszubereitungen mit hohem Phosphatpufferzusatz. Die bestimmten Werte decken sich mit der entsprechenden Zusammensetzung der Lösungen. Die vermessenen Handelspräparate weisen eine verbliebene Pufferkapazität zwischen 5,1 mmol/L und 6,5 mmol/L auf.

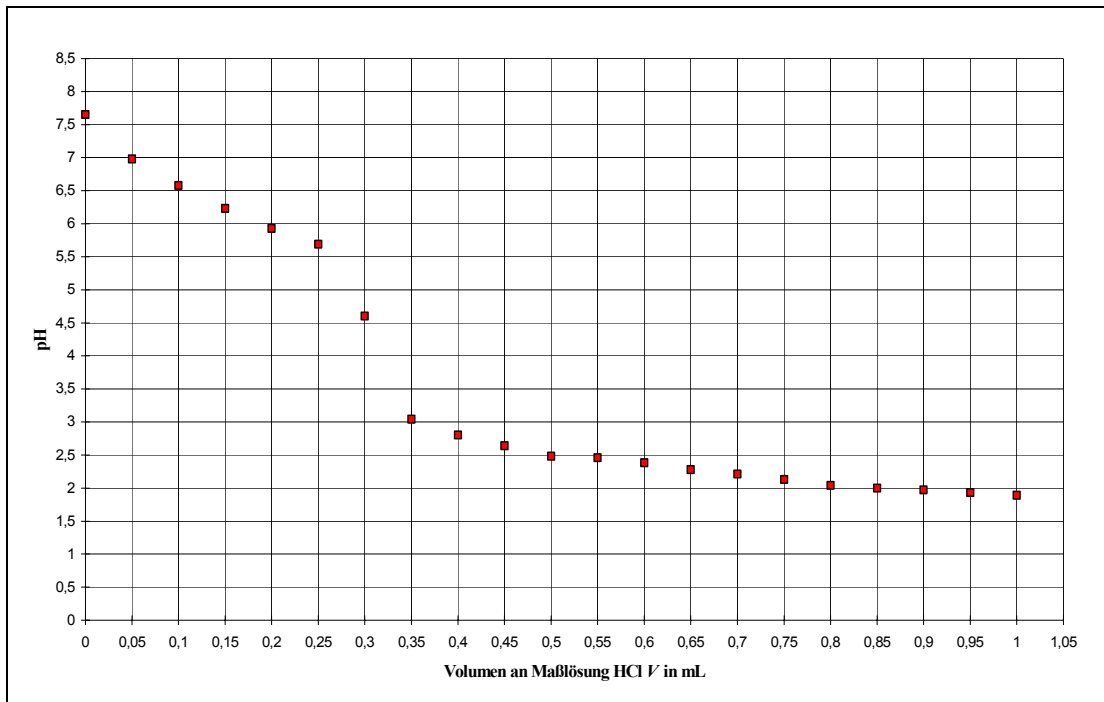


Abb. 110: Beispiel einer Titrationskurve einer 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösung Charge IVA3 (stärker gepuffert mit Dinatriumhydrogenphosphat und NaOH-Zusatz).

Bei den Chargen eigener Herstellung ist teilweise ein deutlicher Abfall der Pufferkapazität über den Lagerzeitraum zu beobachten. Bei Betrachtung der gemessenen Pufferkapazitäten wird der stabilisierende Einfluss einer hohen Pufferkonzentration mit Einstellung im alkalischen Bereich deutlich. Die sterilisierten Chargen weisen meist einen ausgeprägteren Abfall der Pufferkapazität auf.

Mit zunehmender Pufferkapazität der Injektionslösung zum Zeitpunkt der Herstellung verringert sich der pH-Wert Abfall. In allen Fällen sinkt der pH-Wert bei der sterilisierten Charge stärker in den sauren Bereich im Vergleich zur parallel sterilfiltrierten Charge. Ab einer gewissen Pufferkapazität bringt eine weitere Erhöhung der Konzentration jedoch keine weiteren Vorteile im Hinblick auf eine Verminderung des pH-Wertes bei Lagerung (vergleiche z. B. Chargen IV und IX).

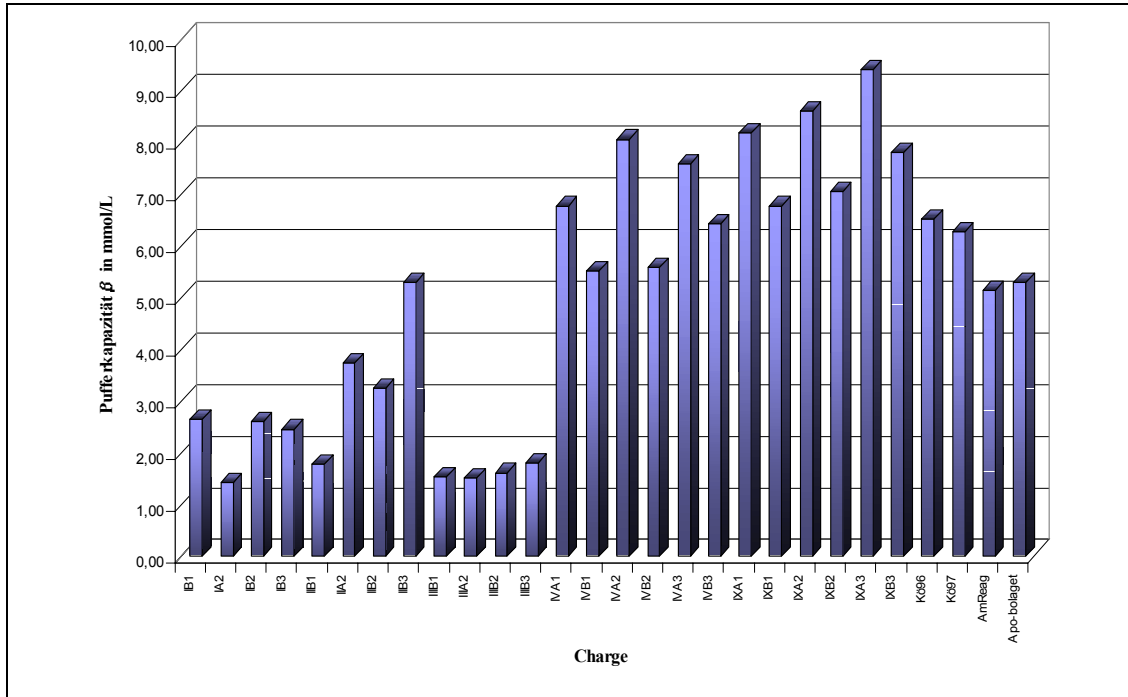


Abb. 111: Pufferkapazitäten der 10%igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen.

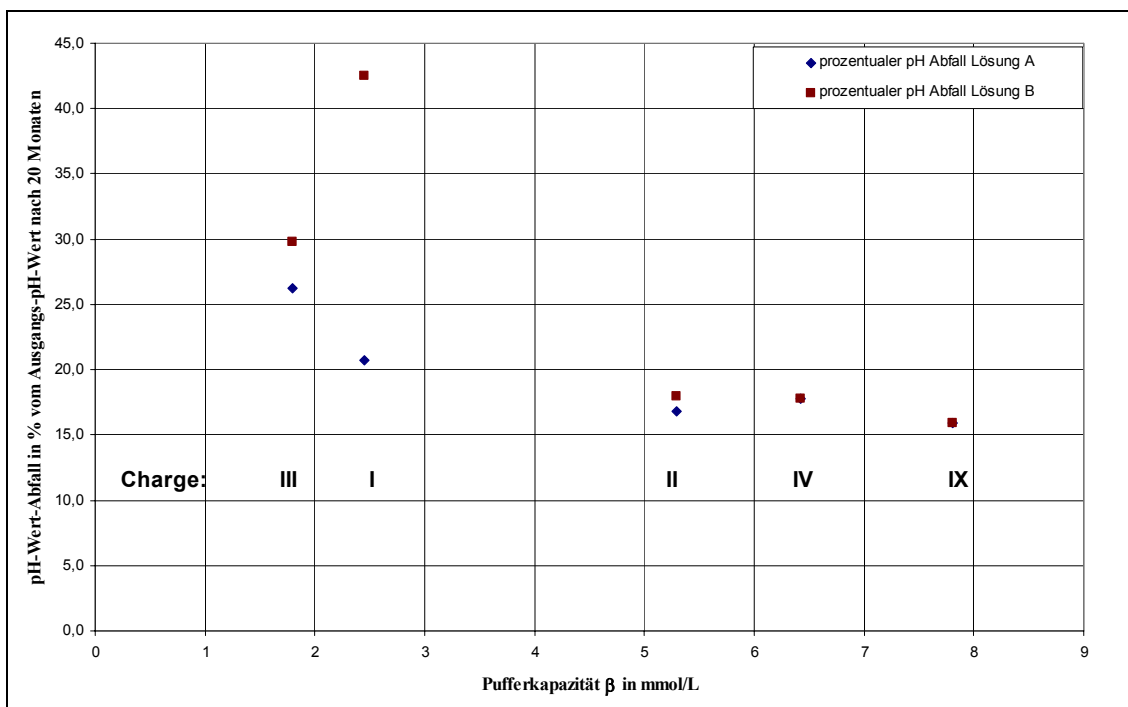


Abb. 112: Vergleich des prozentualen pH-Wert-Abfalls nach 20 Monaten in Abhängigkeit von der Ausgangs-Pufferkapazität (nach Herstellung) für sterilisierte (B) und sterilfiltrierte (A) Natriumthiosulfat-Injektionslösungen eigener Herstellung.

Die jeweils maximalen Pufferwirkungen konnten grafisch unter Berücksichtigung des



Anstiegs der Titrationskurven für die Lösungen mit Phosphatpufferzusatz im Bereich von pH 6,2-6,4 und für die Lösung mit Boratpufferzusatz (Handelspräparat) bei etwa pH 6,7 ermittelt werden (ohne Abb.). In den Lösungen ohne Pufferzusatz fallen die Titrationskurven mit der ersten Zugabe von HCl steil in den sauren pH-Bereich ab. In den gepufferten Lösungen setzt der steilere pH-Wert Abfall bei zunehmender Säurezugabe erst bei pH-Werten zwischen pH 5,0 bis 5,5 ein. Die Lösungen der Charge IX weisen dabei die höchste pH-Wert-Konstanz bei Zugabe von Säure auf.

Im Rahmen der Untersuchungen wurde der pH-Wert der Lösungen nach entsprechender Lagerung ermittelt. Der pH-Wert ist bereits nach der Herstellung der Lösungen und nach der Sterilisation gemessen worden. Die Messung erfolgte mit einer pH-sensitiven Einstabmesskette (Glaselektrode) potentiometrisch mit einem gegen Standard-Pufferlösungen kalibrierten Potentiometer. Es wird deutlich, dass die Lösungen ohne Pufferzusatz den höchsten Abfall um bis zu drei pH-Einheiten aufweisen. Die größte Änderung ist sofort nach der Sterilisation (ohne Abb.) und innerhalb der ersten Monate zu verzeichnen. Die Injektionslösungen mit hohem Phosphatpufferzusatz weisen ebenfalls einen Abfall in den sauren Bereich auf, jedoch nur um etwa 1 bis 1,5 pH-Einheiten. In den Folgemonaten erfolgt nur noch eine geringfügige Veränderung.

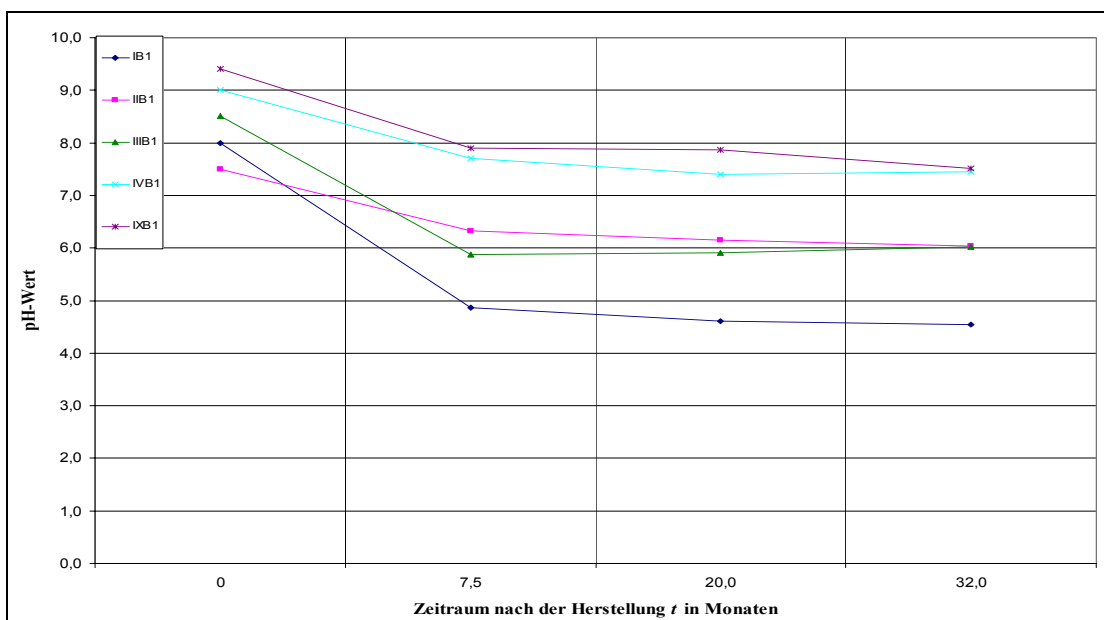


Abb. 113: Beispiele für den pH-Wert-Abfall in sterilisierten 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen eigener Herstellung unterschiedlicher Zusammensetzung in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

### **3.2.9 Prüfung der Natriumthiosulfat-Injektionslösungen auf Sterilität**

#### **3.2.9.1 Prüfung in Flüssigkultur**

Um eine möglicherweise durch Mikroorganismen bedingte Zersetzung oder Beeinflussung des Zersetzungsweges auszuschließen, erfolgte eine Prüfung auf Sterilität. Die Prüfung erfolgte gemäß den Vorgaben des Europäischen Arzneibuches. Für die Prüfung auf vorrangig anaerobe Bakterien wurde ein flüssiges Thioglycolat-Medium verwendet. Zur Prüfung auf vorrangig aerobes Wachstum wurde ein Caseinpepton-Sojapepton-Medium eingesetzt, welches auch für Pilze geeignet ist. Die Bebrütung erfolgte 14 Tage bei 32,5 °C bzw. 22,5 °C in einem geeigneten Brutschrank. Nach 7 Tagen erfolgte eine Zwischenauswertung. Das Medium wurde unter Verwendung von mikrobiologischen Kulturröhrchen aus Glas mit Press-Stopfen sterilisiert und pro Charge wurden mit jedem Medium je 2 Ansätze mit der Probe nach Aufschütteln beimpft (Direktbeschickung). Die beobachtete Verfärbung im oberen Drittel des Thioglycolat-Mediums ist auf eine Sauerstoffdiffusion zurückzuführen. Das Ergebnis wurde bewertet und ein eventueller Bewuchs im unteren Teil des Röhrchens geprüft. Es wurde für alle Prüfungen Blindproben mitgeführt, die in beiden Medien ohne Bewuchs innerhalb des Prüfzeitraums von 14 d blieben. Die Medien waren im Vorfeld mit Positivproben auf Eignung geprüft worden.

#### ***Thioglycolat-Medium:***

Nach 7 Tagen konnte noch keine Trübung festgestellt werden. Alle Ansätze zeigten nach 14 Tagen eine Trübung. Bei näherer Betrachtung handelte es sich um ein untypisches netzartiges Gebilde von eher weißlicher Färbung im Thioglycolat-Medium an der Grenzschicht zur verfärbten Zone. Es könnte sich um anaerobes Wachstum mit einer Wachstumszone oder um eine Reaktion des Mediums oder der Injektionslösung handeln. Das Phänomen konnte sowohl bei allen Chargen mit geringen Unterschieden im Ausmaß der Trübung beobachtet werden. Eine Korrelation zu Rezeptur oder Sterilisationsverfahren konnte nicht festgestellt werden.

#### ***Caseinpepton- Sojapepton-Medium:***

Es wurde ein nur geringer feinkörniger Bodensatz in allen Röhrchen beobachtet. Es gab keinen Hinweis auf für Mikroorganismen typisches Wachstum.

### **3.2.9.2 Kultur auf Agar**

Die Prüfung erfolgte in sterilisierten Petrischalen mit Agarmedium B (Agarmedium mit Casein- und Sojapepton) für die Bakterien-Anzucht und mit Agarmedium C (Sabouraud-Medium) für die Pilz-Anzucht. Die Medien sind nach den Vorschriften des Europäischen Arzneibuchs hergestellt worden. Je Medium wurden 5 Petrischalen unter der Laminar-Flow-Arbeitsbank gegossen und unter Verwendung von sterilen Glasstäben mit der im Thioglycolat-Medium erhaltenen Trübung beimpft. Die Bebrütung erfolgte bei 35 °C bzw. 25 °C 5 Tage lang. Es konnte keine Pilzkultur nachgewiesen werden. Von der Trübung im unteren Teil des Thioglycolat-Mediums konnte keine Kultur auf Agar gezüchtet werden. Eine aerobe Kontamination kann ausgeschlossen werden. Zur Überprüfung auf generelles mikrobielles Wachstum wurde eine Vitalitätsfärbung durchgeführt.

### **3.2.9.3 Übersichtsfärbung / Vitalitätsfärbung mit Methylenblau**

Von den Proben des Thioglycolat-Mediums wurden aus der Trübungszone mit ausgeglühten Platinösen Proben auf Objektträger übertragen, flammenfixiert und mit Methylenblau angefärbt. Die Proben wurden unter dem Lichtmikroskop unter Verwendung von Immersionsöl bei einer Vergrößerung von 1 : 1000 betrachtet.

Bei der Flammfixierung und Einfärbung fiel auf, dass die Proben den Farbstoff fast nicht annahmen. Die Betrachtung der im Thioglycolat-Medium aufgetretenen Trübung ergab sehr dünne netzartige Gebilde von sehr kleinen kugeligen Anhäufungen mit einer Größe  $< 1 \mu\text{m}$  (geschätzt  $\approx 500 \text{ nm}$ ).

Dabei konnte bestätigt werden, dass es sich nicht um Bakterien oder Bakterienbestandteile handelt. Vermutlich handelt es sich hier um anorganische Zersetzungsprodukte. In Frage kommen in diesem Fall eventuell Schwefelabscheidungen aus den Injektionslösungen. Ein tatsächlicher mikrobieller Befall konnte mit den vorhandenen Mitteln ausgeschlossen werden.

### **3.3 Vergleich der Methoden und der Stabilitäten der Injektionslösungen**

#### **3.3.1 Beurteilung der Methoden**

Bei einem Vergleich der untersuchten Methoden werden die Unterschiede bei Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, Selektivität, Präzision, Richtigkeit, Robustheit deutlich. Dementsprechend können die Methoden verschiedentlich sehr gut, teilweise nur eingeschränkt oder gar nicht für die analytische Problemstellung eingesetzt werden.

Vor dem Test einer Methode auf Eignung zur Bestimmung der schwefelhaltigen Ionen neben Thiosulfat-Überschuss stand die Methodenentwicklung an Hand von Lösungen mit annähernd adäquaten Analyt-Konzentrationen. Anschließend wurden die im Hinblick auf Auflösung und Selektivität optimierten Methoden auf ihre Eignung zur Bestimmung der Ionen in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen geprüft.

Bei einigen Methoden zeigte sich bereits in der ersten Phase der Entwicklung, dass den Bestimmungen in einigen Fällen durch zu hohe erreichbare Nachweisgrenzen, z. T. kombiniert mit geringer Selektivität, Grenzen gesetzt sind. Die entwickelten Methoden konnten somit nicht alle für die Bestimmung der Ionen neben Thiosulfat-Überschuss eingesetzt werden. Für einige Methoden wurde diese Limitierung erst in der zweiten Phase deutlich. Durch das ungünstige Konzentrationsverhältnis verschlechterten sich oft Selektivitäten und Nachweisgrenzen bei abnehmender Präzision und Robustheit.

Die Tabelle 34 liefert einen Überblick über die Eignung und den Erfolg der einzelnen Methoden bei der Bestimmung der schwefelhaltigen Ionen in matrixfreier, verdünnter Lösung und in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen. Die Ionenpaarchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion wurde dabei nur kurz dargestellt. Es gelang hier für Sulfid, Sulfat und Thiosulfat eine Trennung, die jedoch nur für die Gehaltsbestimmung von Thiosulfat geeignet ist. Die RP-HPLC wurde nur für die Schwefelbestimmung aufgeführt. Die Titrationsmethoden wurden nur bei der Gehaltsbestimmung von Thiosulfat und der Bestimmung der Pufferkapazität eingesetzt.

Tab. 34: Ergebnisse der Methodenentwicklung.

Ion	Methode	Bestimmung ohne Matrix in verdünnter Lösung:	Bestimmung in Natriumthiosulfat- Lösung 10 g / 100 mL:	Nachweis in Natriumthiosulfat- Injektionslösungen:
		Trennung/Bestimmung erfolgreich: Ja/Nein / NWG bzw. Bereich:		
		NWG	NWG für unverd. Injektionslösung	gefundene Konzen- trationen (unverd. Lsg.)
Sulfat	CE	Ja, $\approx 0,15 \mu\text{g/mL}^{\#}$	Ja, $41 \mu\text{g/mL}^{\#}$	Ja, 120 – 600 $\mu\text{g/mL}$
	IC-LFD	Ja, $\approx 0,025 \mu\text{g/mL}$	Ja, $7 \mu\text{g/mL}$	Ja, 107 – 586 $\mu\text{g/mL}$
	IPC	Nein (keine UV-Abs.)	Nein ( $LFD > 250 \mu\text{g/mL}$ )	Nein
	DPP	Nein	Nein	Nein
Sulfit	CE	Ja, $10 \mu\text{g/mL}^{\#}$ , $10 \mu\text{g/mL}^{\S}$	Ja, $500 \mu\text{g/mL}^{\#}$ , $280 \mu\text{g/mL}^{\S}$	Nein
	IC-LFD	Ja, $0,080 \mu\text{g/mL}$	Ja, $2 \mu\text{g/mL}$	Ja, < NWG – 25 $\mu\text{g/mL}$
	IPC	Ja, n.b.	Nein, n.b., +	Nein
	DPP	Ja, $\approx 0,2 \mu\text{g/mL}$	Ja, $\approx 0,4 \mu\text{g/mL}$	Ja, < NWG – 23 $\mu\text{g/mL}$
Sulfid	CE	Ja, $\approx 5 \mu\text{g/mL}$	Ja, $\approx 1000 \mu\text{g/mL}$	Nein
	IC-LFD	Nein	Nein	Nein
	IPC	Ja, n.b.	Nein +	Nein
	DPP	Ja, $\approx 0,003 \mu\text{g/mL}$	Ja, $0,01 \mu\text{g/mL}$	Ja, < NWG – 0,2 $\mu\text{g/mL}$
Trithionat	CE	Ja, $\approx 10 \mu\text{g/mL}$	Ja, n.b., +	Nein
	IC-LFD	Nein	Nein +	quant. Nein
	IPC	Ja	Nein	Nein ( <i>außer Microsol</i> )
	DPP	Nein	Nein	Nein
Tetrathionat	CE	Ja, $4 \mu\text{g/mL}^{\#}$ , $0,35 \mu\text{g/mL}^{\S}$	Ja, $600 \mu\text{g/mL}^{\#}$ , $41 \mu\text{g/mL}^{\S}$	Nein
	IC-LFD	Nein	Nein	Nein
	IPC	Ja, $0,18 \mu\text{g/mL}$	Ja, $0,7 \mu\text{g/mL}$	Ja, < NWG – 8,6 $\mu\text{g/mL}$
	DPP	Nein	Nein	Nein
Pentathionat	CE	Ja, $1 \mu\text{g/mL}^{\S}$	Nein	Nein
	IC-LFD	Nein	Nein	Nein
	IPC	Ja, $0,11 \mu\text{g/mL}$	Ja, $1 \mu\text{g/mL}$	Ja, < NWG – 4,8 $\mu\text{g/mL}$
	DPP	Nein	Nein	Nein

Fortsetzung Tabelle 34

Ion	Methode	Bestimmung ohne Matrix in verdünnter Lösung:	Bestimmung in Natriumthiosulfat- Lösung 10 g / 100 mL:	Nachweis in Natriumthiosulfat- Injektionslösungen:
		Trennung/Bestimmung erfolgreich: Ja/Nein / NWG bzw. Bereich:		
		NWG	NWG für unverd. Injektionslösung	gefundene Konzen- trationen (unverd.)
Hexathionat	CE	Ja, 4 µg/mL <sup>§</sup>	Nein	Nein
	IC-LFD	Nein	Nein	Nein
	IPC	Ja, 0,76 µg/mL	Ja, 1,9 µg/mL	Ja, <NWG – 2,3 µg/mL
	DPP	Nein	Nein	Nein
höhere Polythionate	CE	Nein	Nein	Nein
	IC-LFD	Nein	Nein	Nein
	IPC	Ja, n.b.	n.b.	Nein
	DPP	Nein	Nein	Nein
Polysulfide	CE	Ja	Nein	Nein
	IC-LFD	Nein	Nein	Nein
	IPC	Ja, n.b.	n.b.	Nein
	DPP	Nein	Nein	Nein
Schwefel	CE	Nein	Nein	Nein
	IC-LFD	Nein	n.b.	Nein
	IPC	Ja, n.b.	n.b.	Nein
	DPP	Nein, n.b.	Nein, n.b.	Nein
	HPLC	Ja, 24 µg/mL	Ja, ≈ 34 µg/10 mL	Ja, <NWG – 1408 µg/mL
Thiosulfat	CE	Ja, für Gehaltsbestimmung geeignet		
	IC-LFD	Ja, für Gehaltsbestimmung geeignet		
	IPC	Ja, für Gehaltsbestimmung geeignet		
	DPP	Ja, für Gehaltsbestimmung geeignet		
	Biamp.	Ja, für Gehaltsbestimmung geeignet		

n.b. nicht bestimmt

+ Interferenz mit anderen Ionen, Selektivität ungenügend, Überladung

§ direkte Detektion;

# indirekte Detektion

Tab. 35: Vergleich der Methoden zur Sulfit- und Sulfatbestimmung.

Parameter / Methode	IC Sulfit	DPP1 Sulfit Kal_3	IC Sulfat	CE Sulfat
Arbeitsbereich für 10 %ige Lösung	5 - 40 µg/mL	1 - 35 µg/mL	25 - 500 µg/mL	100 - 600 µg/mL
Arbeitsbereich absolut für Analyt	0,25 - 2 µg/mL	0,2 - 7 µg/mL	0,125-2,5 µg/mL	0,5 -3 µg/mL
x <sub>NG</sub> für 10 %ige Lösung	2,08 µg/mL	0,47 µg/mL	7,2 µg/mL	41,4 µg/mL
x <sub>BG</sub> für 10 %ige Lösung	7,0 µg/mL	1,67 µg/mL	25,8 µg/mL	119,7 µg/mL
x <sub>NG</sub> absolut für Analyt	0,1 µg/mL	0,09 µg/mL	0,04 µg/mL	0,21 µg/mL
x <sub>BG</sub> absolut für Analyt	0,35 µg/mL	0,32 µg/mL	0,13 µg/mL	0,60 µg/mL
r	0,9909	0,9993	0,9997	0,9962
a	-0,505	2,469	-0,9925	2,814
s <sub>a</sub>	0,200	0,253	0,467	20,283
b	0,275	1,830	0,218	1,892
s <sub>b</sub>	0,009	0,013	0,002	0,052
V <sub>kxo</sub>	8,30 %	2,59 %	2,14 %	4,70 %
VK Signal	9,98 %	7,0 %	1,01 %	1,70 %
mittlerer prozentualer Fehler d. Wiederfindung	5,80 %	2,3 %	5,2 %	7,90 %
kritischer Selektivitätsfaktor	> 1,2	entfällt	4,3	1,06
s <sub>c</sub> für 10 %ige Lösung	1 µg/mL	0,3 µg/mL	3,8 µg/mL	17 µg/mL
Analysendauer	32 min	5 min	32 min	10 min
Robustheit	mittel	hoch	hoch	gering

Beim Vergleich der ionenchromatographischen Bestimmung von Sulfit mit der Bestimmung durch DPP wird die Überlegenheit der polarographischen Methode deutlich. Die erreichbaren Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, bezogen auf die Injektionslösungen, sind bei der DPP niedriger (s. Tabelle 35). Sie betragen etwa ¼ der Grenzgrößen der Ionenchromatographie.

Die niedrigere NWG wird dabei in erster Linie durch die deutlich geringere Verdünnung, die zur DPP-Bestimmung notwendig ist, möglich. Im Analyten sind die absoluten NWG sehr ähnlich. Im Hinblick auf Präzision, Richtigkeit und Aufwand ist der Polarographie jedoch ebenfalls der Vorzug zu geben.

Auch bezüglich der Robustheit wurden stärkere Störungen durch z. B. abnehmende Pufferstabilität, pH-Wert-Schwankungen und wechselnde Probenzusammensetzung (z. B. Chlorid, Phosphat) bei der Ionenchromatographie beobachtet. Lediglich die durch sauren pH-Wert begünstigte Thiosulfat-Zersetzung, die eine präzise pH-Wert-Kontrolle und zügiges Arbeiten erfordert, fallen bei der DPP negativ ins Gewicht.

Ein Paarvergleich der mit beiden Methoden ermittelten Werte zeigt, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Methoden besteht (t-Test). Mit der DPP werden im Vergleich zur IC geringfügig höhere Konzentrationen gefunden. Im Mittel beträgt die Abweichung 1,3 µg/mL. Mögliche Ursachen für den systematischen Fehler können eine unzureichende Sulfid-Stabilisierung, Adsorptionsphänomene oder Störungen in der Basislinie des Chromatogramms, die die korrekte Bestimmung der Peakhöhe beeinflussen haben, sein. Die Sulfidbildung im Elektrolyten bei der DPP wurde durch die Kalibrierung in Thiosulfat-Matrix berücksichtigt.

Eine Bestimmung von Sulfat durch Ionenchromatographie ist der kapillarelektrophoretischen Bestimmung überlegen (s. Tabelle 35). Es werden niedrigere Nachweis- und Bestimmungsgrenzen bei gleichzeitig höherer Präzision und Richtigkeit der Methode erreicht. Auch die Robustheit der chromatographischen Methode ist höher, da bei der CE die Bestimmung durch EOF-Störungen beeinflusst wird. Die CE-Bestimmung reagiert empfindlicher auf pH-Abweichungen und Elektrolytstärke. Eine CE-Bestimmung ist jedoch in deutlich kürzerer Zeit durchführbar. Für die Bestimmung des Sulfat-Gehalts von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen sind beide Methoden geeignet, da hier Konzentrationen im mittleren bis oberen ppm-Bereich oberhalb der Bestimmungsgrenzen vorliegen. Ein Paarvergleich der mit den Methoden ermittelten Werte für identische Injektionslösungen ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Methoden.

Für die Gehaltsbestimmung von Thiosulfat stellte sich keine der drei eingesetzten Methoden eindeutig als Methode der Wahl heraus (s. Tabelle 36). Die Polarographie weist die geringste Abweichung bezüglich der Richtigkeit auf. In der Präzision weisen chromatographische und polarographische Bestimmung ähnliche Abweichungen auf. Die Biamperometrie besitzt eine im Verhältnis sehr gute Präzision, was zum Teil durch die geringe Signalauflösung bedingt ist (Bestimmung des Volumens für den Verbrauch an Maßlösung manuell über Tangentenverfahren). Bezüglich der Richtigkeit liegt die Abweichung im Vergleich zwischen DPP und IPC.

Ein Paarvergleich ergab keinen signifikanten Unterschied für Ionenpaarchromatographie und DPP. Es wurden jedoch signifikant niedrigere Werte für die Titration bestimmt. Die Abweichung bei der Gehaltsangabe beträgt im Mittel -2,4 % Natriumthiosulfat-Pentahydrat. Der systematische Fehler kann bei der Bestimmung des Äquivalenzpunktes liegen, durch einen Volumenfehler oder zu hohe Titrationsgeschwindigkeit bedingt sein.



Tab. 36: Vergleich der Methoden zur Thiosulfatbestimmung und Parameter der Sulfidbestimmung.

Parameter / Methode	IPC-LFD1 Thiosulfat	DPP2 Thiosulfat Kal_1	Biamperometrie Thiosulfat	DPP Sulfid Kal_3
Arbeitsbereich für 10 %ige Lösung	entfällt	entfällt	entfällt	20 – 200 ng/mL
Arbeitsbereich absolut für Analyt	20 - 90 µg/mL	10 - 40 µg/mL	entfällt	4 – 40 ng/mL
x <sub>NG</sub> für 10 %ige Lösung	entfällt	entfällt	entfällt	31 ng/mL
x <sub>BG</sub> für 10 %ige Lösung	entfällt	entfällt	entfällt	110 ng/mL
x <sub>NG</sub> absolut für Analyt	entfällt	1,74 µg/mL	entfällt	6 ng/mL
x <sub>BG</sub> absolut für Analyt	entfällt	5,80 µg/mL	entfällt	22 ng/mL
r	0,9985	0,9963	entfällt	0,9981
a	34,426	-0,626	entfällt	-0,542
s <sub>a</sub>	2,416	0,224	entfällt	0,488
b	3,149	0,300	entfällt	0,440
s <sub>b</sub>	0,04	0,008	entfällt	0,001
V <sub>kxo</sub>	2,2 %	4,21%	entfällt	4,94 %
VK Signal	4,6 %	2,2 %	0,28 %	4,1 %
mittlerer prozentualer Fehler d. Wiederfindung	4,0 %	0,5 %	1,80 %	10,0%
kritischer Selektivitätsfaktor	1,8	entfällt	entfällt	entfällt
s <sub>c</sub> für 10 %ige Lösung	0,77 µg/mL	0,69 µg/mL	0,28 µg / 100 mL	13 ng/mL
Analysendauer	16 min	5 min	7 min	5 min
Robustheit	hoch	hoch	hoch	hoch

Für die Bestimmung von Sulfid (s. Tabelle 36) in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen ist die Differentielle Pulspolarographie die Methode der Wahl. Nur hier gelang eine Kalibrierung im notwendigen Konzentrationsbereich. Bezüglich der Nachweis- und Bestimmungsgrenze ist die DPP allen chromatographischen und elektrophoretischen Methoden deutlich überlegen. Im Hinblick auf die Präzision werden Werte erreicht, die mit den DPP-Bestimmungen anderer Ionen vergleichbar sind. Bezüglich der Richtigkeit resultiert auf Grund der niedrigen Konzentrationen ein höherer relativer Fehler. Bei Betrachtung der absoluten Werte ist dieser Wert im unteren ppb-Bereich jedoch akzeptabel.

Die Bestimmung der Polythionate Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat neben Thiosulfat-Überschuss gelang nur mittels ionenpaarchromatographischer Analyse (s. Tabelle 37). Ein Vergleich mit anderen Methoden steht nicht zur Verfügung, da die bei der Kapillarelektrophorese erreichten Nachweisgrenzen nicht für eine Bestimmung in den Injektionslösungen ausreichen. Erst mit Einsatz eines neuartigen Säulenmaterials

mit einer Amidgruppe (Supelco Discovery® RPC16Amide) konnte eine ausreichende Auflösung aller Signale bei der IPC erreicht werden. Bezüglich Nachweisgrenze und Präzision nimmt die Güte der Bestimmungen von Tetrathionat bis Hexathionat ab. Tetrathionat weist eine etwas größere Abweichung bezüglich der Richtigkeit auf, was vermutlich durch die Nähe zum Thiosulfat-Peak und somit stärkere Beeinflussung durch die Säulenüberladung verursacht wird. Kritische Parameter bezüglich der Robustheit sind die Ionenpaarbildner-Konzentration und ein Nachlassen der Säulenqualität, was sich durch eine Säulenregeneration minimieren lässt.

Für die Bestimmung von Schwefel (s. Tabelle 37) kann lediglich auf eine RP-HPLC-Methode nach Extraktion mit Cyclohexan zurückgegriffen werden. Hier liegt ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen Signal und Konzentration vor. Präzision, Richtigkeit und Robustheit sind vergleichbar mit IC und IPC. Relevant für die Robustheit der Methode sind vor allem Einflussfaktoren bei der Extraktion.

Tab. 37: Parameter der Polythionatbestimmung und der Schwefelbestimmung.

Parameter / Methode	IPC4 Tetrathionat	IPC Pentathionat	IPC Hexathionat	HPLC Schwefel
Arbeitsbereich für 10 %ige Lösung	0,7 - 16 µg/mL	0,7 - 16 µg/mL	0,7 - 16 µg/mL	20 - 90 µg/mL
Arbeitsbereich absolut für Analyt	0,35 - 8 µg/mL	0,35 - 8 µg/mL	0,35 - 8 µg/mL	200 - 900 µg/mL
$x_{BG}$ für 10 %ige Lösung	0,7 µg/mL	1,0 µg/mL	1,9 µg/mL	3,4 µg/mL
$x_{BG}$ für 10 %ige Lösung	2,36 µg/mL	3,56 µg/mL	5,52 µg/mL	20,4 µg/mL
$x_{NG}$ absolut für Analyt	0,34 µg/mL	0,52 µg/mL	0,95 µg/mL	34 µg/mL
$x_{BG}$ absolut für Analyt	1,18 µg/mL	1,78 µg/mL	2,76 µg/mL	204 µg/mL
r	0,9957	0,9899	0,9750	0,9980
a / $a_0$ für HPLC	15184	4882	736	31174
$s_a$ / $s_{a0}$ für HPLC	3684	4026	1595	144587
b / $a_1$ und $a_2$ für HPLC	34596	24641	6124	4849,4 6,3354
$s_b$ / $s_{a1}$ und $s_{a2}$ für HPLC	893	975	386	706,5 0,7492
$V_{kxo}$	9,00 %	13,8 %	22,0 %	n.b.
VK Signal	6-8 %	6-8 %	20 %	0,80 %
mittlerer prozentualer Fehler d. Wiederfindung	18,70 %	6,1 %	21 %	6,0 %
kritischer Selektivitätsfaktor	1,6	1,3	1,5	entfällt
$s_c$ für 10 %ige Lösung	0,36 µg/mL	0,54 µg/mL	0,86 µg/mL	≈ 35 µg/ 10mL
Analysendauer	15 min	15 min	15 min	2 h 10 min
Robustheit	mittel	mittel	mittel	mittel

Für alle Bestimmungen gilt, dass eine Kalibrierung der zu bestimmenden Spezies in einer adäquaten Natriumthiosulfat-Matrix für die Richtigkeit der Bestimmung erforderlich ist. Externe Kalibrierungen in wässriger Lösung und Standardadditionen führen zu abweichenden Ergebnissen, da dabei der Einfluss des Thiosulfat-Überschusses auf die Signalintensität unberücksichtigt bleibt.

Ein allgemeiner und methodenunabhängiger Faktor der Robustheit ist die Stabilität von Sulfit und Sulfid. Eine konstante und reproduzierbar durchgeführte Stabilisierung durch Formaldehyd oder Methanol sowie eine Stickstoffbegasung verbessern hier die Güte der Bestimmung deutlich. Auch die Polythionatbestimmung ist durch Abbaureaktionen gefährdet. Hier besteht keine Stabilisierungsmöglichkeit, somit sind zügiges Arbeiten und reproduzierbare Zeiten zwischen Probenvorbereitung und Messung erforderlich.

Alle Methoden bedürfen pH-Wert-, Temperatur- und Elektrolyt-Konstanz, wobei es hier Unterschiede in der Empfindlichkeit gibt. Während die DPP eher stark auf pH-Wert-Verschiebungen reagiert, ist in der CE eine pH-Wert- und Elektrolyt-Konstanz wichtig. Die Temperatur wird bei der CE und den chromatographischen Methoden gerätebedingt durch Thermostatisierung gewährleistet. Die Elektrolytzusammensetzung und, besonders bei der IC, auch der pH-Wert sind kritische Parameter bei allen chromatographischen Methoden.

Das computergestützte System zur Steuerung der Kapillarelektrophorese und zur Auswertung der Daten erwies sich ebenfalls als ein kritischer Faktor bezüglich der Robustheit der Methode. Trotz entsprechender Rechnerkonfiguration kam es gehäuft zu Fehlfunktionen bei der Datenaufzeichnung und beim Fortgang einer Messserie. Durch die Ausfälle waren die Zersetzung des Analyten und die Kapillarkondition in den betroffenen Messserien nicht vorhersehbar und entsprechend nicht reproduzierbar. Eine Wiederholung der gesamten Analyse war in diesen Fällen unumgänglich.

Für die unterschiedlichen Probenzusammensetzungen ist in allen Fällen eine ausreichende Robustheit der Methoden gegeben. Lediglich bei der ionenchromatographischen Bestimmung wurden vereinzelt Störungen im Chromatogramm bei Handelspräparaten mit hohem Phosphat- und Chlorid-Gehalt beobachtet.

### 3.3.2 Beurteilung der Zersetzung der Injektionslösungen

In allen Injektionslösungen wurde Sulfat als Hauptzersetzungsprodukt oberhalb der Bestimmungsgrenze quantifiziert. Als Ausgangsbelastung einer Natriumthiosulfat-Lösung von 10 g / 100 ml wurden etwa 60 µg/mL Sulfat geschätzt<sup>5</sup>. Daraus lässt sich ableiten, dass in allen Injektionslösungen weiteres Sulfat gebildet wurde. Die bestimmten Mengen liegen im mittleren bis oberen ppm-Bereich. Sulfat bildet unabhängig von der Art der Stabilisierung den größten prozentualen Anteil am Gesamtspektrum der Zersetzungsprodukte. Er beträgt im Minimum  $\approx 62\%$  bei z. B. völlig unstabilisierter Lösung mit starkem pH-Wert Abfall und breitem Spektrum an Zersetzungsprodukten (IB3) und kann bis auf  $\approx 98\%$  bei stark gepufferten, relativ alkalischen Lösungen (IX) ansteigen. Auch bei den Handelspräparaten ist Sulfat das mengenmäßig am meisten gebildete Zersetzungsprodukt.

In der Rangfolge der gebildeten Zersetzungsprodukte steht molekularer Schwefel an zweiter Stelle. Es konnte in den meisten Injektionslösungen Schwefel nachgewiesen werden. Der Anteil des Schwefels an der Gesamtzersezung bewegt sich zwischen  $\approx 4\%$  bei sehr gut stabilisierten, gepufferten Lösungen (IX) und  $\approx 30\%$  bei z. B. unstabilisierten Lösungen mit einem pH-Wert Abfall in den schwach sauren Bereich (I). In den gut stabilisierten Handelspräparaten konnte, ausgenommen in einem Fall, kein Schwefel bestimmt werden

Sulfit wurde nicht in allen Injektionslösungen gefunden. Der höchste Gehalt wurde in den völlig unstabilisierten Lösungen (I) und in den schlecht gepufferten Lösungen mit Disulfit-Zusatz, jedoch ohne EDTA-Zusatz (III) ermittelt. Der Anteil des Sulfits am Gesamtspektrum bei Lösungen eigener Herstellung beträgt zwischen  $\approx 3$  und  $8\%$ . In den unzureichend gepufferten Lösungen mit Disulfit- und EDTA-Zusatz (II) wurde im Vergleich dazu sehr wenig Sulfit mit einem Anteil um  $\approx 0,5\%$  gefunden. Offensichtlich liegen hier Bedingungen vor, die einen Abbau von Sulfit fördern. In den moderat und stark gepufferten Lösungen konnte Sulfit nicht nachgewiesen werden. In den gut alkalisch stabilisierten Handelspräparaten mit Sulfit- und EDTA-Zusatz konnte ebenfalls Sulfit mit einem Anteil von  $\approx 13\%$  bestimmt werden. Das hier nachgewiesene Sulfit stammt vermutlich aus dem Zusatz gemäß Rezeptur.

---

<sup>5</sup> externe Kalibrierung von Sulfat in matrixfreier Lösung mit CE-Bestimmung

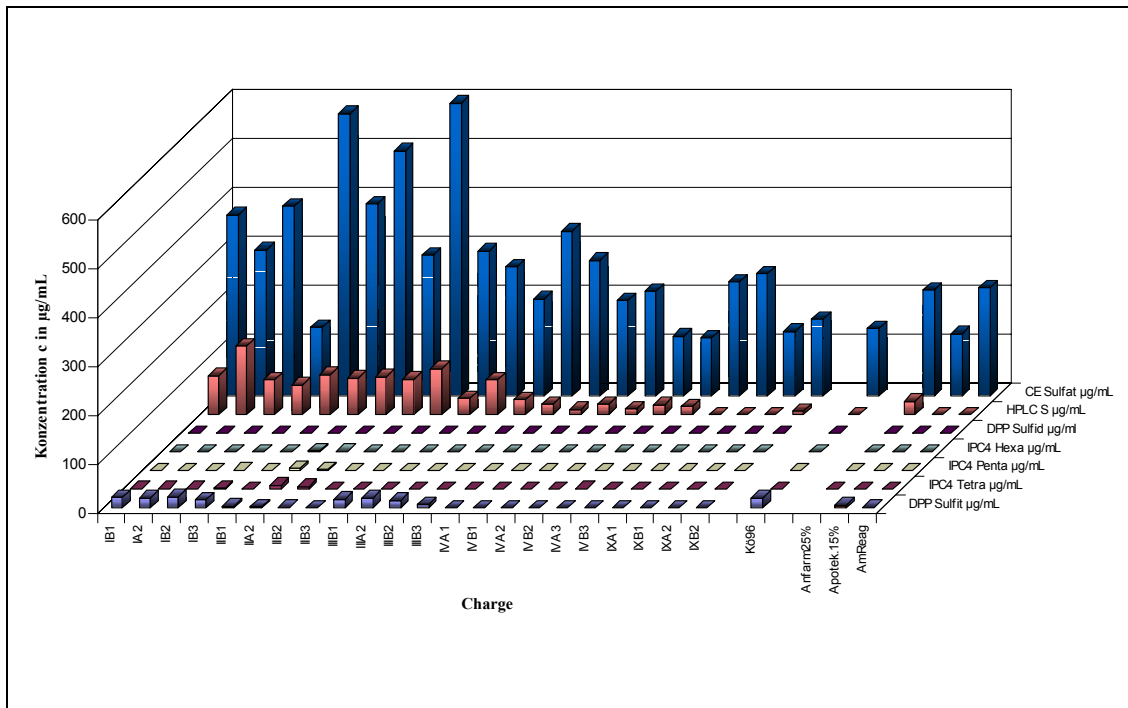
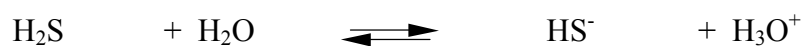


Abb. 114: Beispiele für die Konzentrationen an bestimmbar Zersetzungsprodukten in unverdünnten Injektionslösungen.

Höhere Gehalte von Polythionaten, vor allem Tetrathionat mit einem Anteil bis  $\approx 1,6\%$  und Pentathionat mit einem Anteil bis  $\approx 0,5\%$  wurden vorrangig in den minimal gepufferten Lösungen mit Disulfid und EDTA-Zusatz (II), aber auch in moderat alkalisch gepufferten Lösungen ohne weitere Zusätze (IV) am Anfang der Lagerungszeit nachgewiesen.

Sulfid wurde in einigen Injektionslösungen im unteren ppb-Bereich gefunden. Bezogen auf den Gesamtanteil der Zersetzungsprodukte ist diese Menge sehr gering. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass das in den Lösungen vorliegende  $\text{HS}^-$  Teil des Protolysegleichgewichts



mit der korrespondierenden Säure  $\text{H}_2\text{S}$  ist. Auf Grund des  $\text{pK}_s$ -Wertes von 6,99 liegt bei zunehmend saurem pH-Wert ein Teil als  $\text{H}_2\text{S}$  in der Gasphase vor. Besonders bei den Lösungen mit stärkerem pH-Wert Abfall (I) war ein Geruch von Schwefelwasserstoff beim Öffnen der Ampullen wahrnehmbar. Der angegebene Gehalt wird um diesen nicht erfassten Anteil bereinigt. Die Berechnung erfolgte über die Henderson-Hasselbalch-Gleichung.

Die Abbildung 116 verdeutlicht den Unterschied zwischen der quantifizierten Menge an Hydrogensulfid und dem berechneten, korrespondierenden Anteil an nicht erfasstem Schwefelwasserstoff. Es lassen sich Verhältniszahlen für  $\text{H}_2\text{S} : \text{HS}^-$  mit bis zu 300fach höheren  $\text{H}_2\text{S}$ -Konzentrationen im Vergleich zur Hydrogensulfid-Konzentration berechnen. Diese Extrema resultieren dabei für die nicht stabilisierten Lösungen und für die wenig stabilisierten Lösungen mit Sulfit-Zusatz oder Sulfit- und EDTA-Zusatz (I bis III). Es wurde hier während der Lagerung ein pH-Wert Abfall in den schwach sauren Bereich verzeichnet (pH 4,5 bis 6,3).

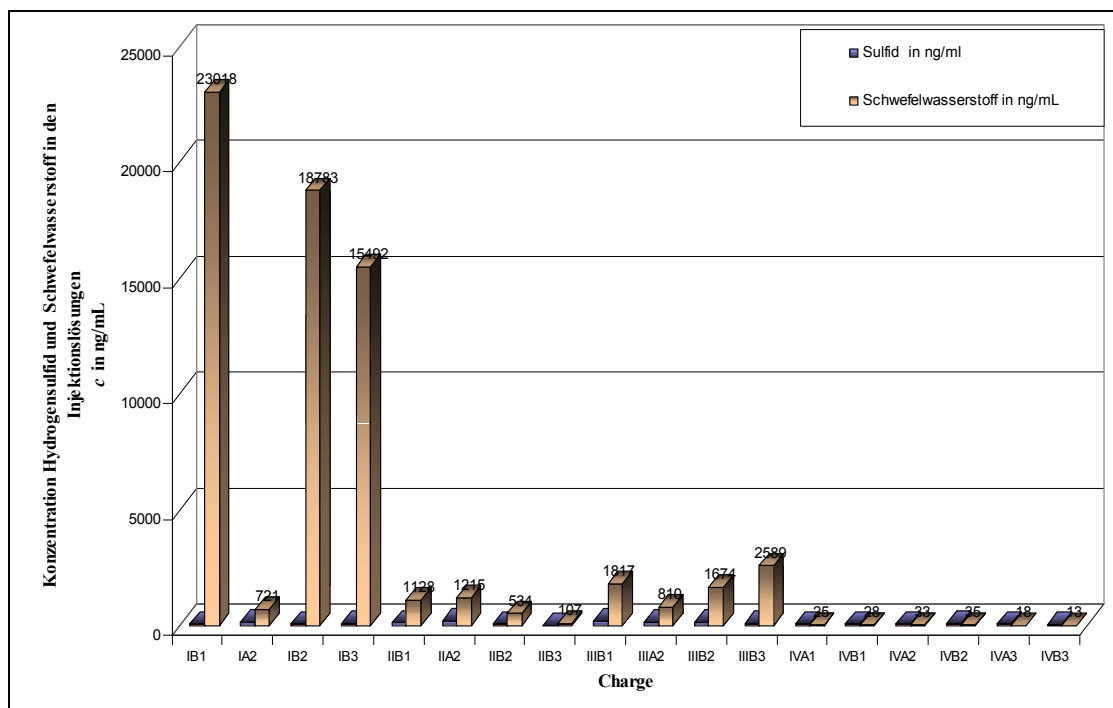


Abb. 115: Konzentration Hydrogensulfid (berechnet als Sulfid) und korrespondierende Konzentration Schwefelwasserstoff in den Injektionslösungen.

Eine Beurteilung der Zersetzung der Injektionslösungen ist nur möglich, wenn man die gebildeten Mengen der verschiedenen Zersetzungsprodukte in umgesetzte Stoffmengen Schwefel umrechnet. Die einzelnen Ionen besitzen stark abweichende Molgewichte. Somit werden bei den bisher vorgenommenen Betrachtungen der in den Lösungen vorliegenden Konzentrationen die Mengen an gebildeten Polythionaten, Sulfat und Sulfit stärker im Vergleich zu Schwefel, Sulfid und Schwefelwasserstoff gewichtet.

Bei einer Berechnung als Stoffmenge des mit den Zersetzungsprodukten umgesetzten Schwefels in den Ionen und Verbindungen wird diese Fehlwichtung vermieden. Eine eindeutige Aussage erhält man zuletzt durch eine Bezugnahme des Anteils der Stoffmenge Schwefel der gebildeten Zersetzungsprodukte im Verhältnis zur Stoffmenge Schwefel des Natriumthiosulfats der Injektionslösung.

Für alle sterilisierten Lösungen ist dabei eine eindeutige Zunahme des Zersetzungsgrades zu beobachten (s. Abbildung 117). Der zeitliche Verlauf ist stark von der Zusammensetzung der Lösungen abhängig. Ein eindeutiger Zusammenhang bei Vergleich der sterilisierten mit den sterilfiltrierten Lösungen kann nicht bestimmt werden (ohne Abb.).

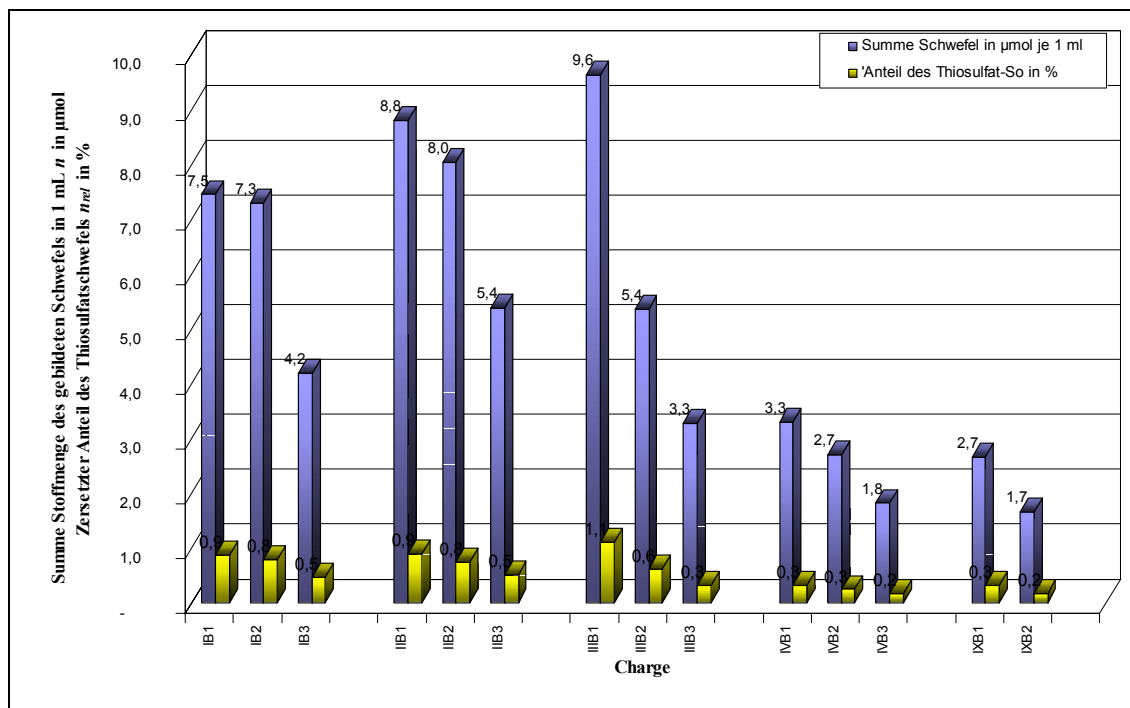


Abb. 116: Umrechnung der gebildeten Zersetzungsprodukte als Stoffmenge Schwefel, Bezugnahme Anteil des Schwefels der Zersetzungsprodukte relativ im Verhältnis zur Stoffmenge Schwefel des Thiosulfats der Injektionslösung, sterilisierte Injektionslösungen.

Während die sehr gut stabilisierten, autoklavierten Lösungen einen fast linearen Anstieg vermuten lassen, ist bei den unstabilisierten, zusatzfreien Lösungen der Rezeptur I eine Verminderung der Zersetzungsrate im Verlauf der Lagerzeit festzustellen. Die Lösungen der Rezeptur II mit Sulfit und EDTA zeigen einen ähnlichen Verlauf. Bei den Lösungen der Rezeptur III mit Sulfitzusatz in ungenügend gepufferter Lösung ist hingegen eine Beschleunigung der Zersetzung bei fortschreitender Alterung aufgetreten. Der Anteil der Stoffmenge Schwefel der Zersetzungsprodukte an der Stoffmenge Schwefel des eingesetzten Natriumthiosulfats, betrachtet nach der längsten Lagerungszeit und bei sterilisierten Injektionslösungen, reicht von 0,02 % bei sehr stabilen Handelspräparaten sowie  $\approx 0,3$  % bei stark stabilisierten Zubereitungen bis zu 1,1 % bei stark zersetzten Lösungen.

Den höchsten Zersetzungsgrad bei Vergleich aller Injektionslösungen weist die sterilisierte Injektionslösung der Rezeptur III (Sulfitzusatz und unzureichender Pufferzusatz) nach der längsten Lagerungsdauer auf. Ebenfalls starke Zersetzung weisen die anderen Lösungen der Rezepturen I, II und III mit vorsätzlich unzureichender Stabilisierung auf.

Eine starke Zersetzung kombiniert mit dem breitesten Spektrum an Zersetzungsprodukten weisen die Lösungen der Rezeptur II auf. Eine unzureichende pH-Wert Stabilisierung mit gleichzeitigem EDTA und Sulfit-Zusatz fördert im Vergleich zu Lösungen ohne jeden Zusatz (s. Rezeptur I) eher das Ausmaß der Zersetzung. Ein Sulfitzusatz allein kombiniert mit unzureichender Pufferkapazität führt im Vergleich (s. Rezeptur III) nicht zu derart starker Zersetzung mit sehr breitem Spektrum. Bei ausreichender Pufferkapazität im alkalischen Milieu wirken EDTA und Sulfit hingegen nicht zersetzungsfördernd sondern stabilitätsfördernd (s. Handelspräparat Fa. Köhler).

Eine ausreichende Stabilität kann jedoch auch ohne Sulfit- und EDTA-Zusatz durch hohe Pufferkapazität und pH-Einstellung im alkalischen Milieu ( $\text{pH} \approx 8,5$ ) erreicht werden (s. Rezepturen IV und IX). Ein Erhitzen eines Ansatzes, der eine sehr hohe Pufferkapazität im alkalischen Milieu aufweist, vor Abfüllung mit anschließender Filtration des abgeschiedenen Schwefels entfernt offenbar Zersetzungsprodukte aus dem Gleichgewicht, so dass eine höhere Stabilität der Lösungen gegeben ist (s. Rezeptur IX).

Ein Anstieg der Konzentration an Zersetzungsprodukten (hier vorwiegend Sulfat) ist jedoch sowohl in den alkalisch stabilisierten Lösungen als auch bei den Handelspräparaten bei längerer Lagerung zu beobachten.

In der mit Borsäure stabilisierten Injektionslösung (Handelspräparat) konnten neben Sulfat keine nennenswerten Mengen anderer Zersetzungsprodukte bestimmt werden.

Ein eindeutiger Unterschied bezüglich der Gesamtzersetzung kann zwischen sterilisierten und sterilfiltrierten Lösungen (ohne thermische Belastung) nicht nachgewiesen werden. Lediglich bei den Chargen II und III (Sulfitzusatz, mit und ohne EDTA, geringe Pufferwirkung) ist eine stärkere Zersetzung in der sterilisierten Lösung eindeutig zu erkennen. Bei der Charge I fällt der höhere Anteil an gebildetem Schwefel der nicht sterilisierten Lösung im Vergleich zur sterilisierten Lösung auf.

Eine Zersetzungs kinetik kann aus den wenigen Datenpunkten nicht abgeleitet werden. Art und Umfang der gebildeten Zersetzungsprodukte sind zu komplex. Es lässt sich jedoch feststellen, dass die Bildung mit unterschiedlichem zeitlichen Verlauf von statten gehen und einige Ionen vermutlich nur intermediär bei günstigen Bedingungen in den



Lösungen vorkommen. Besonders die Polythionate lassen sich in wechselnden Konzentrationen während der Lagerung, auch in neutraler Lösung, nachweisen. Bei einigen Ionen erfolgt in verschiedenen Zubereitungen nach zunächst ansteigendem Gehalt ein Abbau bei weiterer Lagerzeit (s. Sulfit, Sulfid, Polythionate). Lediglich Schwefel und Sulfat nehmen in allen Lösungen während der Lagerung stetig zu.

Die sterilisierten Lösungen der Rezepturen I, II und III weisen z. B. annähernd identische Endkonzentrationen an gebildetem Schwefel auf und zeichnen sich durch eine starke, nicht unbedingt lineare Zunahme des Schwefelgehalts während der Lagerung aus. Die Charge II weist bereits nach 1 ½ Jahren eine im Vergleich relativ hohe Konzentration auf, gefolgt von Charge I und III. Die Charge IV fällt z. B. durch eine im gesamten Zeitraum zu beobachtende geringere Zersetzung auf (ohne Abbildung), so dass die Konzentrationen nur knapp über der Nachweisgrenze liegen.

In den Handelspräparaten konnte, ausgenommen in einem Fall, kein Schwefel nachgewiesen werden. Ob es sich nur um bereits aus dem Ausgangsstoff eingebrachte Verunreinigung oder um ein lagerungsbedingtes Zersetzungsprodukt handelt, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, da die Ausgangsbelastung hier unbekannt ist. Die jedoch deutlich sichtbare Niederschlagsbildung deutet auf eine Zersetzung der Lösung hin.

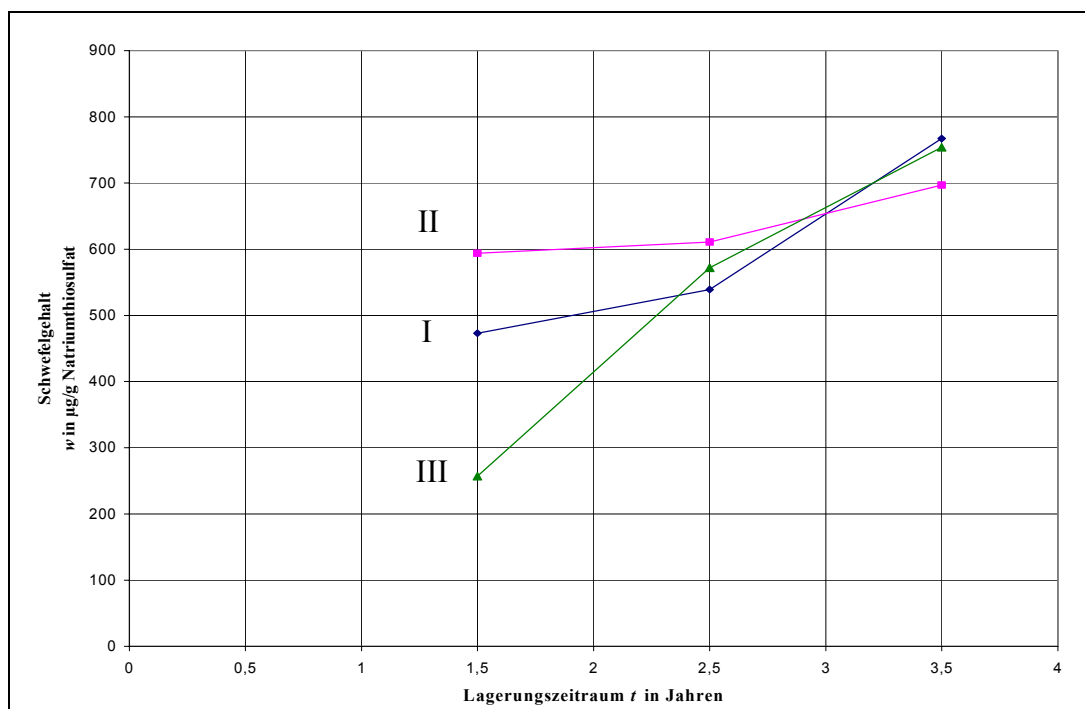


Abb. 117: Entwicklung der gebildeten Schwefelmenge in sterilisierten 10 %igen Natriumthiosulfat-Injektionslösungen eigener Herstellung.

Der stärkste pH-Wert Abfall wurde bei den sterilisierten Lösungen der Chargen I, II und III im Vergleich zur jeweils sterilfiltrierten Lösung beobachtet. Offenbar führt die thermische Belastung zu Reaktionen, die mit einem pH-Wert Abfall einhergehen. Ob die Ursache in Zerfallsreaktionen oder Reaktionen mit der Glasoberfläche zu suchen ist, kann nicht geklärt werden. Eingebragtes Kohlendioxid beim Abschmelzen der Ampullen kann als Ursache ausgeschlossen werden, da beide Lösungen identisch ampulliert wurden. Eine ausreichende Pufferkapazität kann den pH-Wert Abfall verhindern.

Für die meisten Zersetzungsprodukte konnte keine Korrelation zwischen pH-Wert und gebildeter Konzentration gefunden werden. Besonders bei den Polythionaten, aber auch bei Sulfit, Sulfat, Schwefel und in geringerem Ausmaß bei Sulfid/Schwefelwasserstoff wurden z. T. in den weniger saueren Lösungen deutlich höhere Mengen gefunden, so dass hier weitere Faktoren einen zersetzungsfördernden Einfluss haben. Besonders eine höhere Ausgangsbelastung durch Sulfit bei schwach saurem pH-Wert führt zu einer stärkeren Zersetzung. Bei Betrachtung der Pufferkapazitäten der Lösungen lässt sich hingegen feststellen, dass bei steigender Pufferkapazität der Injektionslösung ein abnehmender Grad der Zersetzung beobachtet wird (s. z. B. Abbildung 119).

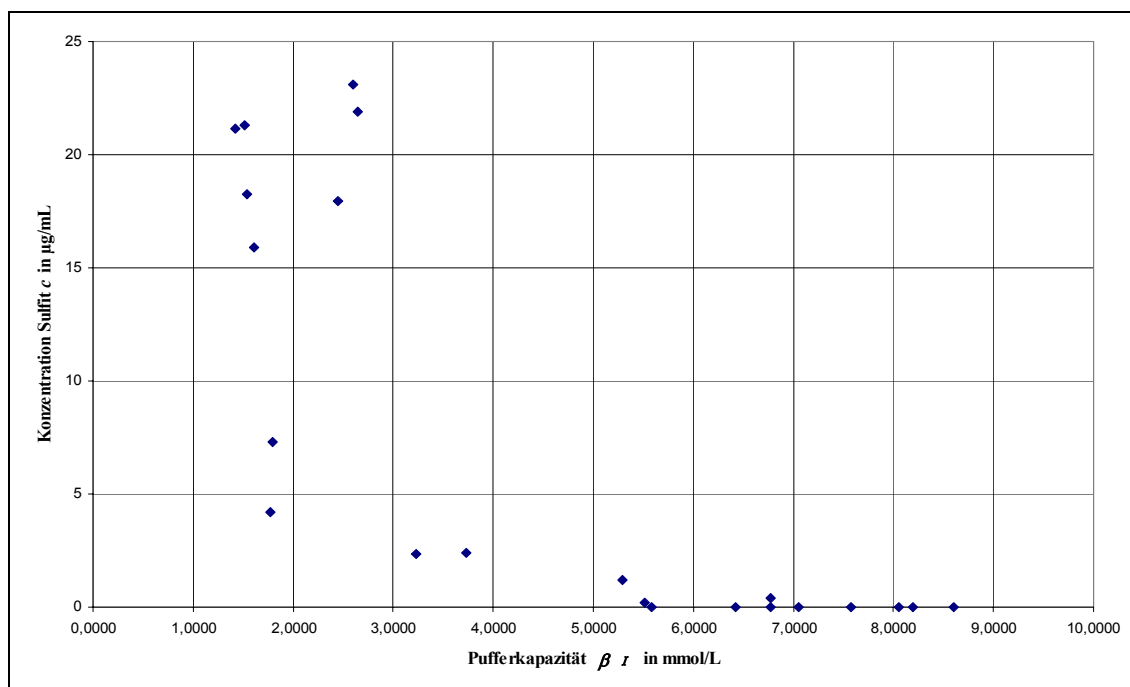


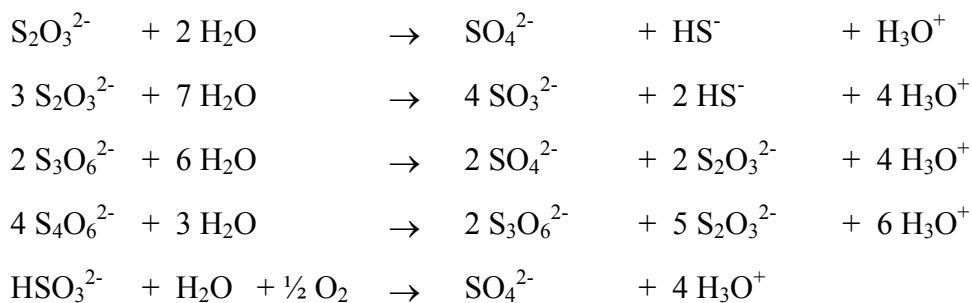
Abb. 118: Zusammenhang Pufferkapazität – Konzentration Sulfit in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen eigener Herstellung.

Allgemein gültige Reaktionsgleichungen lassen sich für diese komplexen Zusammenhänge nicht formulieren. Zur Bildung der beobachteten Zersetzungsprodukte können folgende Vorgänge führen:

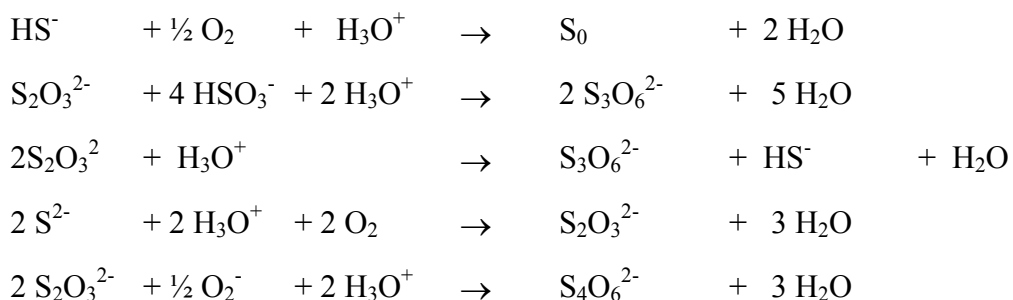
- ⇒ Hydrolyse von Thiosulfat zu Schwefelwasserstoff / Sulfid und Sulfat und zu Schwefel und Sulfit, durch die thermische Belastung und pH-Absenkung (Protolyse Schwefelwasserstoff, CO<sub>2</sub>-Eintrag) beschleunigt und u. U. in der Art der Reaktionsprodukte beeinflusst,
- ⇒ Oxidation von Thiosulfat zu Tetrathionat, von Sulfit zu Sulfat und von Schwefelwasserstoff / Sulfid zu Schwefel durch Reste von Sauerstoff in der Gasphase, eventuell durch Schwermetallreste (Ausgangsstoffverunreinigung, Glasoberfläche / Glaszusammensetzung, eventuell durch EDTA im schwach sauren Milieu herausgelöst) katalysiert,
- ⇒ Sulfitolyse / Sulfidolyse von Polythionaten, die aus Ausgangsstoffverunreinigungen, aus der Oxidation von Thiosulfat und Reaktion von z. B. Thiosulfat mit Sulfit (z. B. Reaktion von Thiosulfat mit Sulfit (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) zu Trithionat und Tetrathionat) stammen,
- ⇒ Schwefeleinlagerung in Polythionate, die somit einer Kettenverlängerung unterliegen.

Bei den möglichen Reaktionen kann man neben Reaktionen ohne Beteiligung von Protonen zwischen

a) *Reaktionen, die Protonen generieren, z. B.:*



b) *und Reaktionen mit Protonenverbrauch, z. B.:*



unterscheiden [zu a) s. u. a. auch Gleichungen II, VI, VIII, IX, XIII, XXI, LXX, XXVIII S. 22-35, zu b) s. u. a. auch Gleichungen IV, XII, XVI, XXII, XXIV, XXIX, XXX, XLI, S. 23-28]. Denkbar wäre somit eine primäre Absenkung des pH-Wertes in den Injektionslösungen, bei der sehr langsam ablaufende Reaktionen vom protonengenerierenden Typ zur Zersetzung der Lösung führen. Eine Beschleunigung der Reaktionskinetik durch die Hitzeeinwirkung bei der Sterilisation und weitere unbekannte Faktoren, z. B. Katalyse, sind vorstellbar. Sekundär könnten, nachdem der pH-Wert in den Lösungen etwas abgesenkt ist, auch zusätzlich Reaktionen unter Protonenverbrauch ablaufen. In den Lösungen könnten sich damit auch verschiedene thermodynamische Gleichgewichte einstellen.

Eine Photokatalyse als Initialreaktion ist für das beobachtete Spektrum an Zersetzungsprodukten nicht erforderlich, da die untersuchten Lösungen unter absolutem Lichtschutz gelagert wurden. Die Bildung von Polythionaten ist nicht von einem  $\text{pH} \leq 7,0$  in der Lösung abhängig, da auch in Lösungen mit einem  $\text{pH} > 7,4$  Polythionate im oberen ppb-Bereich nachgewiesen wurden. Falls in den Lösungen Polysulfide entstehen, so liegen die Konzentrationen unter der Nachweisgrenze.

Vermutlich sind Art und Umfang der Verunreinigung des eingesetzten Natriumthiosulfats mit Sulfid, Sulfid und Tetrathionat in Kombination mit pH-Wert und Pufferkapazität sowie Schwermetallbelastung ausschlaggebend für die sich ausbildenden Reaktionsgleichgewichte und Reaktionsrichtungen (s.a. Kap. 2.4).

Bei einer Betrachtung der gebildeten Stoffmengen der einzelnen Zersetzungsprodukte lässt sich feststellen, dass sich etwa 80 – 99,8 % des abgebauten Thiosulfats zu Sulfat und molekularem Schwefel zersetzen. Bei den schwach sauren, stark zersetzten Lösungen lassen sich die Mol-Verhältnisse auf  $\approx 1 \text{ Mol S}^0 : \approx 1 \text{ Mol SO}_4^{2-}$  grob eingrenzen. Deutlich weniger Thiosulfat beschreitet den Zersetzungsweg zu Schwefelwasserstoff / Hydrogensulfid und Sulfid. Etwa 0,1 – 17,5 % des abgebauten Thiosulfats bilden Schwefelwasserstoff / Hydrogensulfid und Sulfid mit einem ungefähren Mol-Verhältnis von  $\approx 1 - 3 \text{ Mol H}_2\text{S} / \text{HS}^- : \approx 3 - 1 \text{ Mol SO}_3^{2-}$ . In einigen Lösungen reagieren intermediär bis zu 0,1 - 4,9 % des abgebauten Thiosulfats zu Polythionaten. Hierbei nimmt die gebildete Menge mit zunehmender Kettenlänge ab. Hexathionat wurde häufig nicht mehr nachgewiesen.

## 4 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden mehrere Methoden zur Bestimmung der Zersetzungsprodukte von Natriumthiosulfat in hochkonzentrierten Injektionslösungen entwickelt, optimiert und validiert.

Entsprechend der Zielsetzung konnten in den Injektionslösungen eigener Herstellung verschiedene Verunreinigungsprofile erzeugt werden. Die Leistungsfähigkeit der Methoden wurde bei der Bestimmung der schwefelhaltigen Verbindungen in den verschiedenen Zubereitungen bewiesen.

Ein vorangestellter Überblick über die in der Literatur beschriebenen Methoden verdeutlicht, dass nur in wenigen Arbeiten die Bestimmung der im Spurenbereich auftretenden Zersetzungsprodukte von hoch konzentriertem Thiosulfat untersucht wurde. Bei diesen Untersuchungen konnten nicht für alle potentiellen Zersetzungsprodukte Methoden mit ausreichender Nachweisgrenze und Selektivität entwickelt werden. Die bisher beschriebenen Methoden der instrumentellen Analytik zur Bestimmung schwefelhaltiger Ionen und molekularen Schwefels decken einen extremen Überschuss an Thiosulfat nicht ab.

Es wurden im Rahmen dieser Arbeit Methoden der Ionenchromatographie unter Einsatz der Leitfähigkeitsdetektion zur Bestimmung von Sulfit und Sulfat im unteren bis mittleren ppm-Bereich neben Thiosulfat-Überschuss entwickelt. Sulfat und Sulfit wurden hier trotz Thiosulfat-Überschuss getrennt und weisen im Hinblick auf andere mögliche Probenbestandteile eine ausreichende Selektivität auf. Eine gegenseitige Beeinflussung der Signale bei der Bestimmung beider Ionen besteht somit nicht mehr. Die Nachweisgrenzen konnten gesenkt und Präzision und Korrelation im Vergleich zu den bisher beschriebenen Methoden verbessert werden.

Für die Bestimmung von Sulfat in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen wurde erstmalig eine kapillarelektrophoretische Methode entwickelt und eingesetzt. Trithionat konnte mit dieser Methode ebenfalls in Einzelfällen detektiert werden.

Für die Bestimmung der Polythionate wurde unter Einsatz einer RPC16Amide-Phase erstmalig eine ionenpaarchromatographische Bestimmung von Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen ermöglicht. Die Kalibrierung erfolgte im unteren ppm-Bereich.

Es konnten die Methoden der Differentiellen Pulspolarographie zur Bestimmung von Sulfid im unteren bis mittleren ppb-Bereich und Sulfit im unteren ppm-Bereich neben Thiosulfat-Überschuss sowie zur Gehaltsbestimmung von Thiosulfat optimiert und validiert werden. Die Methoden zeichnen sich durch hohe Präzision und Robustheit aus. Die Nachweisgrenzen konnten gesenkt und Präzision und Korrelation im Vergleich zu den bisher beschriebenen Methoden verbessert werden.

Zur Quantifizierung des molekularen Schwefels im unteren bis mittleren ppm-Bereich in den wässrigen Injektionslösungen wurde eine Extraktion mit Cyclohexan und nachfolgender RP-HPLC-Bestimmung entwickelt. Im Vergleich zu den bisher beschriebenen Untersuchungen mit einer Grenzprüfung auf Schwefel ist somit erstmalig eine konkrete Konzentrationsangabe möglich.

Neben der Differentiellen Pulspolarographie wurde der Gehalt an Thiosulfat auch mit Hilfe der Ionenpaarchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion und mit biamperometrischer Titration bestimmt.

Eine Bestimmung der Pufferkapazität der Injektionslösungen wurde mit Hilfe einer Säure / Base – Titration mit potentiometrischer Endpunktsanzeige durchgeführt.

Unter Einsatz eines modifizierten Kapillarmaterials (CElect® Amine) und optimierter Trennparameter konnten in einer Polysulfidlösung Polysulfide verschiedener Kettenlängen mit Hilfe der Kapillarzonenoelektrophorese getrennt werden.

Für alle Methoden wurden die validierungsrelevanten Parameter ermittelt und bewertet. Ein Vergleich der Methoden ergab, dass zur Bestimmung von Sulfit und Sulfid die Differentielle Pulspolarographie, zur Bestimmung von Sulfat die Ionenchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion und zur Bestimmung des Thiosulfat-Gehalts die Ionenpaarchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion oder die DPP die Methode der Wahl sein sollten. Zur Bestimmung der Polythionate kann auf die ionenpaarchromatographische Bestimmung zurückgegriffen werden. Für die Bestimmung von Schwefel steht die HPLC-Methode zur Verfügung.

In der Arbeit wurden verschiedene Methoden für die Trennung und Bestimmung einer Vielzahl relevanter schwefelhaltigen Ionen im unteren ppm-Bereich in einem Analysengang entwickelt und vorgestellt. Eine Simultanbestimmung aller Spezies in den Injektionslösungen ist jedoch nicht durchführbar. Als Ausblick für künftige Arbeiten erscheint die Isotachophorese mit Heartcutting eine viel versprechende Alternative, da hier der störende Thiosulfat-Überschuss ausgeschleust werden kann. Die Methode stand für diese Arbeit nicht zur Verfügung.

Es erfolgte eine vergleichende Beurteilung der Injektionslösungen unter Berücksichtigung des stöchiometrisch umgesetzten Anteils an Schwefel aus Thiosulfat, der zu den Zersetzungsprodukten führte.

Es wurde in der Vorbetrachtung ein Überblick über die komplexen Reaktionen der schwefelhaltigen, anorganischen Verbindungen gegeben. Dabei wurde deutlich, dass viele Zusammenhänge noch ungeklärt sind. Einige der dort dargestellten Vorgänge führen zur Bildung des in den Injektionslösungen nachgewiesenen Zersetzungsprofils.

Es wurden bei bisher beschriebenen Untersuchungen nur Sulfit, Sulfat und Schwefel als Zersetzungsprodukte in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen nachgewiesen. Schwefel wurde mit Hilfe einer Grenzprüfung nachgewiesen. Polythionate sind bisher nicht in Injektionslösungen bestimmt worden. Sulfid ist nur im Stresstest in stark alkalischen Lösungen gefunden worden.

Die Untersuchungen an den Injektionslösungen verdeutlichen, dass es in schlecht stabilisierten Lösungen zum pH-Wert Abfall, besonders nach der Sterilisation, kommt. Im schwach sauren Milieu bildet sich ein umfangreicheres Spektrum an Zersetzungsprodukten bei insgesamt höherem Zersetzungsgrad der Injektionslösungen. Besonders ein Sulfitzusatz in gering gepufferter Lösung fördert die Zersetzung.

In einigen Fällen wurde eine stärkere Zersetzung durch die thermische Belastung bei der Sterilisation gefunden. Dieser Zusammenhang lässt sich jedoch nicht für alle Lösungen bestätigen. Bei unzureichender Pufferkapazität der Ausgangslösung ist ein stärkerer pH-Wert Abfall in den thermisch belasteten, autoklavierten Lösungen festgestellt worden.

Eine ausreichende Pufferkapazität im alkalischen Milieu wurde als Hauptfaktor für stabile Injektionszubereitungen bestimmt.

Es wurde eine thermische Vorbelastung der Lösung mit dem Ziel einer schnelleren Gleichgewichtseinstellung von ablaufenden Zersetzungsreaktionen mit einhergehender Fällung schwerlöslicher Sulfide und molekularen Schwefels durchgeführt. Die anschließende Entfernung von zersetzungsfördernden Bestandteilen aus der Lösung durch Filtration des Ansatzes erhöhte die Stabilität.

Eine grundsätzliche Förderung der Zersetzung durch EDTA und / oder Sulfit konnte im Rahmen der Untersuchungen nicht bestätigt werden. Nur bei ungenügender Pufferkapazität wurde bei Lösungen mit EDTA und / oder Sulfit eine stärkere Zersetzung im Vergleich zu Lösungen ohne jeden Zusatz nachgewiesen.

Unter Einsatz der entwickelten Methoden wurde in den Injektionslösungen Sulfid im ppb-Bereich, Sulfit, Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat im unteren ppm-Bereich, Sulfat und Schwefel im unteren bis mittleren ppm-Bereich nachgewiesen und quantifiziert. Die real vermessenen Konzentrationen der Ionen im Analyten liegen dabei um den Faktor der Verdünnung korrigiert um 5 bis 200fach niedriger.

In Einzelfällen wurde Trithionat detektiert. Polythionate mit einer Kettenlänge von mehr als sechs Schwefelatomen und Polysulfide konnten in den Injektionslösungen nicht nachgewiesen werden.

Tetrathionat, Pentathionat und Hexathionat wurden auch in Natriumthiosulfat-Lösungen mit einem pH-Wert um den Neutralpunkt nachgewiesen. Sulfid wurde sowohl in schwach sauren als auch neutralen Lösungen nachgewiesen. Es wurde dabei das Protolysegleichgewicht von Schwefelwasserstoff berücksichtigt. Sulfit wurde nur in Lösungen mit pH-Wert Abfall in den schwach sauren Bereich und bei hochstabilen Handelspräparaten mit Sulfitzusatz gefunden. Schwefel und Sulfat konnten in allen Lösungen nachgewiesen werden. Sulfat ist das Hauptzersetzungsprodukt aller Injektionslösungen.

Die entwickelten Methoden bilden eine umfassende Grundlage für die Inprozesskontrolle und Stabilitätsüberwachung von Natriumthiosulfat-Injektionslösungen. Unter Einsatz der beschriebenen Spurenanalytik können Untersuchungen zur Kinetik des Zerfalls hochkonzentrierter, wässriger Natriumthiosulfat-Lösungen durchgeführt werden. Neben der Bestimmung von Zersetzungsprodukten in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen gestatten die entwickelten Methoden auch eine breite Anwendung in der allgemeinen Analytik schwefelhaltiger, anorganischer Verbindungen. Es konnte ein Beitrag zur Einschätzung von Faktoren, die mit der Zersetzung und der Stabilität wässriger Natriumthiosulfat-Lösungen im Zusammenhang stehen, durch die durchgeführten Untersuchungen geleistet werden.



## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Verwendete Chemikalien und Reagenzien

#### 5.1.1 Materialien für die Analytik

Aceton; LiChrosolv<sup>®</sup>, > 99,8 %; MERCK, E.Merck Darmstadt  
Acetonitril; HPLC Reagent Baker Analyzed<sup>®</sup>; J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker B.V.  
Ammoniumacetat; reinst, > 96 %; MERCK, E.Merck Darmstadt  
Ammoniummolybdat; puriss.; 99,99 - 101,0 %, VEB Laborchemie Apolda  
Ammoniumoxalat; z. Analyse, VEB Laborchemie Apolda  
Ammoniumsulfid-Lösung; z. Analyse, > 20 %; FERAK, Berlin  
Ascorbinsäure; puriss.; Laborfeinchemikalien  
1,2,3- Benzentricarbonsäure;  $\approx$  98 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
1,3,5- Benzentricarbonsäure; purum > 97 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
1,2,4,5- Benzentetracarbonsäure;  $\approx$  95 %; SIGMA Chemical Co. St. Louis, USA  
Benzoesäure; z. Analyse; SERVA Feinbiochemica Heidelberg  
Bleiacetat; z. Analyse, VEB Laborchemie Apolda  
Borsäure; puriss.; VEB Laborchemie Apolda  
Citronensäure; reinst, z. Analyse; isocommerz VE Außen-und Binnenhandelsbetrieb  
Chloroform; reinst, 99,0 - 99,4 %, Mehrwegfässer; MERCK, E.Merck Darmstadt  
Cyclohexan, HPLC Reagent Baker Analyzed<sup>®</sup>; J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker B.V.  
Decamethoniumbromid; puriss. für IPC; FLUKA Chemie AG Bruchs  
2-Diethylaminoethanol; purum, > 99 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Diethylaminoethyl-Dextran; Chlorid-Form; SIGMA Chemical Co. St. Louis, USA  
Diethylenetriamin; > 99 % unter Argon; SIGMA Chemical Co. St. Louis, USA  
Dinatriummethylen-diamintetraacetat; Caesar und Loretz GmbH  
Dinatriumhydrogenphosphat; DAB 7 DDR; VEB Laborchemie Apolda  
Dinatriumpentacyanonitrosylferrat-(II) Dihydrat; z. Analyse > 99 %; MERCK  
di-Phosphorpentoxid; rein; FERAK Berlin  
Essigsäure; Eisessig 100 %, z. Analyse, > 99,8 %; FERAK Berlin  
Ethanol; z. Analyse, Rothipuran<sup>®</sup>  $\geq$  99,8 %; ROTH Carl Roth GmbH Karlsruhe  
Formaldehyd-Lösung; 37 %, stab. mit 10 % Methanol; z. Analyse; FERAK Berlin  
Galacturonsäure; puriss.  $\approx$  99 %; FLUKA Chemie AG Bruchs

Glycerol; z. Analyse; FERAk Berlin

Glykolsäure; reinst  $\approx 99\%$ ; SERVA Feinbiochemica Heidelberg

Hexadecyltrimethylammoniumbromid; puriss. für IPC; FLUKA Chemie AG Bruchs

Hexamethoniumchlorid; purum; FLUKA Chemie AG Bruchs

4-Hydroxybenzoesäure; puriss.  $\approx 99\%$ ; FLUKA Chemie AG Bruchs

Hydroxypropylmethylcellulose; für die CE; SIGMA Chemical Co. St. Louis, USA

Iodmaßlösung; Riedel-de Haën

Ionenaustauscher; z. Analyse, 2x8, mesh 20-50; DOWEX AG / SERVA Feinbioch.

Kaliumbromat; p.a. E. Merck KGA Darmstadt

Kaliumbromid; Uvasol<sup>®</sup>, E. Merck KGA Darmstadt

Kaliumchloridlösung; 3 mol/L; Metrohm AG Herisau

Kaliumdihydrogenphosphat; 2. AB DDR; VEB Laborchemie Apolda

Kaliumhydrogenphthalat; z. Analyse; FERAk Berlin

Kaliumnitrit; z. Analyse 97 %; MERCK, E. Merck Darmstadt

Kaliumiodid; reinst E. Merck KGA Darmstadt

Lithiumlactat; z. Analyse; SERVA Feinbiochemica Heidelberg

Methanol; HPLC Reagent Baker Analyzed<sup>®</sup>; J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker B.V.

Naphthalin-1,4,5,8- tetracarbonsäure, Hydrat; 97 %; ALDRICH Chemie Steinheim

Naphthalin- 1,5- disulfonsäure; 97 %; ALDRICH Chemie Steinheim

Naphthalintrisulfonsäuretrinitriumsalz, (1,3,6-/1,3,5-/1,3,7-); ALDRICH Chemie Stein.

Natriumbenzoat; BP 73, USP XIX, DAB 7; FERAk Berlin

Natriumbisulfit; z. Analyse;  $> 98\%$ ; Riedel-deHaën AG Seelze

Natriumcarbonat, wasserfrei; 99,5 %; FERAk Berlin

Natriumchlorid; reinst, z. Analyse; Chempur

Natriumchromat, Tetrahydrat; puriss.; P.P.H. Polskie Odczynniki Chem.-Gliwice

Natriumdithionat; p.a. Hersteller nicht identifizierbar

Natriumdithionit; z. Analyse; FERAk Berlin

Natriumfluorid, p.a. E. Merck KGA Darmstadt

Natrium-D-gluconat; puriss.  $> 99\%$ ; FLUKA Chemie AG Bruchs

Natrium-D-glucuronat; puriss.  $\approx 99\%$ ; FLUKA Chemie AG Bruchs

Natriumhydrogencarbonat Urtiter, reinst, E. Merck KGA Darmstadt

Natriumhydroxid-Maßlösung; Titrisol<sup>®</sup> 1 mol/L; MERCK, E. Merck Darmstadt

Natriumhydroxid-Maßlösung; Fixanal<sup>®</sup> 1 mol/L und 0,1 mol/L; Riedel-deHaën AG Seelze

Natriumiodid; p.a. VEB Feinchemie Sebnitz

Natriumnitrat, p.a. VEB Labor- und Feinchemikalien

Natriumsulfat; z. Analyse  $> 99\%$ ; MERCK E. Merck Darmstadt

Natriumsulfid, Nonahydrat; 99,99 + %; SIGMA ALDRICH Co. Milw. USA

Nonansulfonsäure; 97 %; ALDRICH Chemie Steinheim

Natriumsulfit, wasserfrei; Microselekt<sup>®</sup>  $> 98\%$ ; FLUKA Chemie AG Bruchs

Natriumtetraborat; Eich-Puffersubstanz; VEB Feinchemie Sebnitz

Natriumtetrathionat, Dihydrat; Microselekt<sup>®</sup>  $> 99,0\%$ ; FLUKA Chemie AG Bruchs

Natriumthiosulfat, Pentahydrat; z. Analyse > 99,5 %; Riedel-deHaën AG Seelze  
Natriumthiosulfat-Maßlösung; 1 mol/L; Riedel-deHaën AG Seelze  
Octansulfonsäure; 98 %; ALDRICH Chemie Steinheim  
Phosphorsäure, 85 %; reinst, z. Analyse; VEB Laborchemie Apolda  
Phthalsäure; z. Analyse, VEB Laborchemie Apolda  
2-Propanol; HPLC Reagent Baker Analyzed<sup>®</sup> > 99 %; J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker  
Reinstwasser, > 16 MΩ; Reinstwasseranlage – im Text als Wasser bezeichnet  
Salzsäure, rauchend 36-37 %; reinst; J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker  
Salzsäure-Maßlösung, Fixanal<sup>®</sup> 1 mol/L und 0,1 mol/L; Riedel-deHaën AG Seelze  
Schwefel, kolloid; 95 %; VEB Schwefelveredlung Pocklitz  
Schwefelsäure, 95-97 %; z. Analyse; Riedel-deHaën AG Seelze  
Schwefelsäure; DILUT-IT<sup>®</sup> 1 mol/L; f J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker B. V.  
Schwefelwasserstoff; 99,5 + %; ALDRICH Chemie Steinheim  
Sorbinsäure; puriss. > 99 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Standardpufferlösungen, pH 4,01 / 7,02 / 9,26; Ingold Meßtechnik GmbH Steinbach  
Standardpufferlösungen, pH 4,01 / 7,02 / 9,26; Mettler Toledo GmbH Steinbach  
Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung, ≈ 40 %; puriss.; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Tetrahydrofuran, stabilisiert; p.a. > 99 %; VEB Laborchemie Apolda  
N, N, N', N'-Tetramethylethyldiamin; > 99 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Triethyldiamin; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Triethanolamin; ÖAB 1990; Caesar und Loretz GmbH Hilden  
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan; reinst; SERVA Feinbiochemica Heidelberg / NY  
Weinsäure 99,9 % BAKER, Mallinckrodt Baker B. V.  
Wasser → siehe Reinstwasser

### 5.1.2 Materialien für Synthesen und präparative Arbeiten

Aceton; z. Analyse, > 99,5 %, Mehrwegfässer; MERCK, E.Merck Darmstadt  
Ammoniumsulfid-Lösung; z. Analyse, > 20 %; FERAK, Berlin  
Aqua purificata, Ringleitung  
Diethylether; abgefüllt FB Chemie HU Berlin  
di-Phosphorpentoxid; rein; FERAK Berlin  
Dischwefeldichlorid; z. Synthese, > 99 %; abgefüllt FB Chemie HU Berlin;  
Eisen- (III)- chloride (Hexahydrat); > 98 %; Roanal Budapest  
Ethanol; z. Analyse, Rothipuran<sup>®</sup> ≥ 99,8 %; ROTH Carl Roth GmbH Karlsruhe  
Kaliumhydroxid; puriss. > 86 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Kaliummetabisulfid; > 98%; SIGMA ALDRICH Chemie GmbH Deisenhofen  
Kaliumthiosulfat; Hydrat; SIGMA ALDRICH Chemie GmbH  
Methanol; z. Analyse, > 99,8 %, Mehrwegfässer; MERCK, E.Merck Darmstadt  
Natriumchlorid; reinst, z. Analyse; Chempur

Natriumchlorid, für Kältemischungen; Bulkware BHG Mühlenbeck; FB Chemie HU  
Natriumhydrogensulfit-Lösung, 39 %; MERCK E. Merck Darmstadt  
Natriumhydroxid; z. Analyse > 98%; FERAK Berlin  
Natriumsulfit, wasserfrei; Microselekt<sup>®</sup> > 98 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Natriumsulfid, Nonahydrat; 99,99 + %; SIGMA ALDRICH Co. Milw. USA  
Natriumtetrathionat, Dihydrat; Microselekt<sup>®</sup> > 99,0 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Natriumthiosulfat, Pentahydrat; z. Analyse > 99,5 %; Riedel-deHaën AG Seelze  
n-Propanol; z. Synthese > 99 %; Merck Schuchard Hohenbrunn  
2-Propanol; HPLC Reagent Baker Analyzed<sup>®</sup> > 99 %; J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker  
Reinstwasser, > 16 MΩ; Reinstwasseranlage  
Salzsäure, rauchend 36-37 %; reinst; J.T. BAKER, Mallinckrodt Baker  
Schwefel, kolloid; 95 %; VEB Schwefelveredlung Pocklitz  
Schwefel puriss., > 99,0 %; FLUKA Chemie AG Bruchs  
Schwefeldichlorid, FB Chemie HU  
Schwefelsäure, 95-97 %; z. Analyse; Riedel-deHaën AG Seelze  
Schwefelwasserstoff; 99,5 + %; ALDRICH Chemie Steinheim  
Schweflige Säure, 5-6 %; z. Analyse; VEB Jenapharm Laborchemie Apolda  
Tetrachlorkohlenstoff, VEB Laborchemie Apolda  
Trockeneis; Peter Lindner GmbH Vertrieb Technische Gase Propan Trockeneis  
Universalindikatorpapier, pH 0-14; MERCK E. Merck Darmstadt  
Wasserstoffperoxid 35 %; 33,5 - 36,5 % Ph. Nord; FERAK Berlin  
Wasser → siehe Reinstwasser

### 5.1.3 Materialien für die Ampullenherstellung

Ampullen 10 mL Aufbrechampullen Fiolax<sup>®</sup> klar, OSON Glaswarenfabrik Volkach  
Wasser für Injektionszwecke, hausinterne Herstellung  
Dinatriumethylendiamintetraacetat (NaEDTA) Caesar und Loretz GmbH  
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat; DAB 7 DDR; VEB Laborchemie Apolda  
Dinatriumhydrogenphosphat-Dodekahydrat; VEB Laborchemie Apolda  
Kaliumdihydrogenphosphat; 2. AB DDR; VEB Laborchemie Apolda  
Natriumbisulfit; z. Analyse; > 98 %; Riedel-deHaën AG Seelze  
Natriumhydroxid; z. Analyse; Chemapol Prag  
Natriumthiosulfat, Pentahydrat; z. Analyse > 99,5 %; Riedel-deHaën AG Seelze  
Geräte allgemeiner Laborstandard

### 5.1.4 Untersuchte Handelspräparate

Natriumthiosulfat-Infusionslösung 25 %ig a 100mL, Ch.: 961301, verw. bis 06/98,  
Dr. Franz Köhler Chemie GmbH Alsbach-Hähnlein, Deutschland

Natriumthiosulfat-Infusionslösung 25 %ig a 100mL, Ch.: 981731, verw. bis 05/00  
Dr. Franz Köhler Chemie GmbH Alsbach-Hähnlein, Deutschland

Natriumthiosulfat-Injektionslösung 10 %ig a 5 x 10 mL, Ch.: 950811, verw. bis 06/98  
Dr. Franz Köhler Chemie GmbH Alsbach-Hähnlein, Deutschland

Natriumthiosulfat-Injektionslösung 10 %ig a 25 x 10 mL, Ch.: 961911, verw. bis 12/99  
Dr. Franz Köhler Chemie GmbH Alsbach-Hähnlein, Deutschland

Natriumthiosulfat-Injektionslösung 10 %ig a 25 x 10 mL, Ch.: 973431, verw. bis 12/00  
Dr. Franz Köhler Chemie GmbH Alsbach-Hähnlein, Deutschland

Sodium Thiosulfate Injekt. 10 %ig 5 x 10 mL, Ch.: 7202, verw. bis 02/99  
American Reagent Laboratories, Inc., Shirley, USA

Natriumthiosulfat for inj. 150 mg/mL 15 %ig 10 x 10mL, Ch.: 704X2372, verw. bis 05/00  
Apoteksbolaget Umeå, Schweden

Sodium Thiosulphate 25 % 10 x 20mL, Ch.: 1201, verw. bis 04/02  
Pharmazeutisches Institut für Forschung und Technologie Pallini Attika, Griechenland

Microsol Soufre Ampullen, 3,87 mg/mL  
Laboratoires Herbaxo Z.I. Nord Torcy, Frankreich

## 5.2 Verwendete Geräte, Apparaturen und Hilfsmittel

### 5.2.1 Geräte, Apparaturen und Hilfsmittel der Analytik

#### 5.2.1.1 Kapillarzonenoelektrophorese

Kapillarelektrophorese: Spectra Phoresis 500™; TSP Thermo Separation Products, Darmstadt  
Software: PC 1000 Software Version 2.6; TSP Thermo Separation Products, DA

Kapillaren: Quarz „fused silica“ ID 50 µm / 10m; TSP Thermo Separation Prod.  
Quarz „fused silica“ ID 75 µm / 10 m; TSP Thermo Separation Prod.  
Celect™ Amine 75 µm/ 1m vorkond. SUPELCO Inc. Bellefonte, USA  
Celect™ Amine ID 50 µm/ 1m vorkond.; SUPELCO Inc. Bellefonte, USA  
Celect™ H275 ID 75 µm/ 1m vorkond.; SUPELCO Inc. Bellefonte, USA

Kapillarkassetten mit integrierter Balllinie; TSP Thermo Separation Products

Kapillarschneider: Polymicro Technologies, Inc. Bloomfield, USA

Probengefäße: 2 mL Glas; TSP Thermo Separation Products  
500 µl Polypropylen; TSP Thermo Separation Products

Verschlüsse: Polypropylen, mit Gewinde; TSP Thermo Products

### 5.2.1.2 Ionenaustauschchromatographie

Ionenchromatograph	GAT Wescan Ion Analyzer; GAT Gamma Analysen Technik, Bremerhaven / Berlin
Pumpe:	307 Piston Pump Abimed Gilson, Gilson, Villes Le Bel, France
Integrator:	Shimadzu C-R6A Chromatopac
Injektionsventil:	Rheodyne 7125, 100 µl Probenschleife und Lock-Luer-Ansatz
Spritze:	2 mL Einmalspritze B. Braun Melsungen AG, Melsungen Filtervorsatz Minisart SRP 25, 0,45 µm; Sartorius GmbH Göttingen
UV-Detektor:	Variable Wavelength Monitor Nr. 16333; Knauer Berlin
Säulen:	GAT ZAL 269-013 Anion/S; 100 x 4,6 mm; Vorsäule ZAL 269090 Ion Guard; Gamma Analysen Technik GmbH GAT ZSHPCI 201 S Anion / R 100 x 4,6 mm, Vorsäule ZSHPCI 201 SG Guard Column; Gamma Analysen Technik GmbH Hamilton Anion-Resin R 250 x 4,1 mm (Hamilton Reno, USA)
Schreiber:	endim 621.02 y-t-Recorder

### 5.2.1.3 Ionenpaarchromatographie

HPLC-Anlage:	Intelligent Pump L-6200A; Interface L-6000; Diode Array Detektor L 4500 MERCK HITACHI, E. Merck Darmstadt / Hitachi, Ltd. Tokyo
Software:	HPLC System Manager Chromatography Data Station Software® Modell D- 7000; MERCK HITACHI, E. Merck Darmstadt / Hitachi Instruments, Inc. San Jose
Injektionsventil:	Rheodyne® 7125 mit 20 µl Probenschleife
Spritze:	Microdosierspritze Gastight® #1710 100 µl; Hamilton Co., Reno, USA
Säulen:	LiChroCART® 250-4 HPLC Cartridge LiChrosphere 100 PR-18 endcapped (5 µm); E. Merck Darmstadt LiChroCART® 125-4 HPLC Cartridge LiChrosphere 100 PR-18 endcapped (5 µm); E. Merck Darmstadt Discovery® RP Amide C16250 x 4,6 mm, 5 µm; SUPELCO Bellefonte, USA

### 5.2.1.4 HPLC

HPLC-Anlage:	Intelligent Pump L-6200A; Interface L-6000; Diode Array Detektor L 4500 MERCK HITACHI, E. Merck Darmstadt / Hitachi, Ltd Tokyo
Software:	HPLC System Manager Chromatography Data Station Software® Modell D- 7000; MERCK HITACHI, E. Merck Darmstadt / Hitachi, Instruments, Inc. San Jose
Injektionsventil:	Rheodyne® 7010 mit 20 µl Probenschleife
Spritze:	Microdosierspritze Gastight® #1710 100µl; Hamilton Co., Reno, USA
Säulen:	LiChroCART® 125-4 HPLC Cartridge LiChrosphere 100 PR-18 (5µm); E. Merck Darmstadt
Reagenzgläser 25 mL mit Schliff und Stopfen	
Erlenmeyer mit Schliff und Stopfen 50 mL und 100 mL,	
GFL-Schüttelwasserbad 1083 (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel)	
Sartorius-Basic <sup>plus</sup> Elektronische Halbmikrowaage	

**5.2.1.5 Polarographie**

Polarograph:	VA-Stand 694; METROHM AG Herisau, Schweiz
Software:	VA-Processor 693, Software Version Sept. 1995; METROHM AG Herisau, Schweiz
Arbeitselektrode:	Multi-Mode-Elektrode (MME) Quecksilbertropfelektrode; METROHM AG Herisau, Schweiz
Referenzelektrode:	Silber/Silberchlorid-Elektrode, Ag/AgCl / / KCl 3 mol/L ; METROHM AG Herisau, Schweiz
Auxilliaryelektrode:	Glassy Carbon; METROHM AG Herisau, Schweiz

**5.2.1.6 Titrationsverfahren**

Apparatur:	Titrimo 736 GP, Dosimat 685, 665; Stirrer 728; METROHM AG Herisau, Schweiz
Elektroden:	Doppelplatin-Elektrode 716 DMS Titrimo Biamperometrie
Büretten:	DURAN 25 mL
Rührer:	IKAMAG RH Janke & Kunkel IKA –Labortechnik

**5.2.1.7 IR-Spektroskopie**

Spektralphotometer:	ATI Mattson Unicam™ Genesis FTIR
Software:	ATI Mattson Unicam™ WINFirst Version 2.0
Preßwerkzeug:	Gaseby Specac™ 13 mm DIE PT. No 3000 und Presslinghalter
Presse:	Gaseby Specac™ Hydraulische 15-t-Pressen manuell
Vakuumpumpe:	Labormembranpumpe KNF Type N 726.3 FT.18
Mörser:	Achatmörser und –pistill

**5.2.1.8 UV/Vis-Spektroskopie**

Spektralphotometer:	registrierendes UV/Vis-Spektralphotometer UV- 2101/3102 PC Shimadzu Corp. Anal. Instr. Divis. Kyoto Japan
Software:	3102 PC Version 3.0
Küvetten	Hellma Präzisions-Küvetten, Quarzglas 100-QS, 10 mm Schichtdicke; Hellma GmbH & Co, Müllheim

### 5.2.1.9 Allgemeine Geräte und Hilfsmittel

Reinstwasserherstellung:	SG Reinstwassersystem Typ RS 90-4 UF, SG Wasseraufbereitung- und Regenerierstation GmbH, Hamburg-Barsbüttel
Probenfiltration:	2mL und 5mL Einmalspritzen BRAUN B. Braun Melsungen AG, Melsungen; Filtervorsatz Minisart SRP 25, 0,20 µm und 0,45 µm; Sartorius GmbH Göttingen
Eluentenfiltration:	Filtriereinrichtung und Cellulose-Nitrat-Filter 0,45 µm Sartorius AG Göttingen
pH-Messung:	pH-Meter WTW pH 525; Glaselektrode Mikro-pH-Einstabmesskette mit Ag/AgCl-Bezugssystem N 6000 A, Schottgeräte GmbH Hofheim
Pipetten:	20 µl / 100 µl / 1000 µl Varipette® 4810; Standardtips schwermetalldfrei; Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, HH Vollpipetten 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL;
Ultraschallbad:	Bandelin Sonorex RK 100
Analysenwaage:	AC 211 P, Sartorius AG Göttingen
Trockenschrank:	VacuTherm VT 6025; Heraeus Instruments
Glasgeräte:	allgemeiner Laborstandard Rasotherm® oder Duran®-Glas
Datenauswertung:	Microsoft Excel-Versionen 5.0, 97 SR-2 / 2000 / 2002 / XP nichtlineare Regression: Mathematica™ Version 4.1
Signalauswertung:	Integration der Peakfläche bei computergestützten Systemen mit Auswertesoftware und einstellbaren BL-Parametern (HPLC, IPC, CE) Integration der Peakhöhe bei Systemen ohne Auswertesoftware Auswertung von Schreiberkurven (IC) (DPP Auswertung der Höhe wg. gegebenem Zusammenhang)

### 5.2.2 Geräte und Hilfsmittel für Synthesen und präparativen Arbeiten

Magnetrührer/Heizplatte:	IKA RCT
Fritten:	Duran® Robu-Glas Por.4, Rasotherm® Jenaglas R4
Zentrifuge:	Medifuge 200 S, Heraeus Instr.
Eisbereiter:	Stemmer KG Wessamat perfect ice
Rotationsverdampfer:	Büchi Waterbath B-480 Rotavapor R-114; Büchi Labortechnik GmbH Konstanz
Glasgeräte:	allgemeiner Laborstandard
Tonkacheln:	allgemeiner Laborstandard



### 5.2.3 Geräte für die Herstellung der Injektionslösungen

Ansatzgefäß:	Satorius Type SM 17531 DJG Werkstoff; Satorius AG Göttingen
Abfüllung:	Füll- und Verschließmaschine Typ R 915; Rota Apparate und Maschinenbau Dr. Henning GmbH & Co
Autoklav:	Dampfsterilisator Vakulab S 3000; Münchner Medizin Mechanik GmbH
pH-Messung:	pH-Meter WTW pH 522; Glaselektrode Mikro-pH Einstabmesskette mit Ag/AgCl-Bezugssystem N 6000 A, Schottgeräte GmbH Hofheim

## 5.3 Methoden

### 5.3.1 Methoden der Analytik

#### 5.3.1.1 Methoden der Ionenaustauschchromatographie

*IC1:*

Laufmittel: 2,5 mmol/L Benzoesäure, 2,5 mmol/L Natriumbenzoat, pH-Wert 4,1  
Fluss: 1 mL/min  
Temperatur: 30 °C  
Säule: GAT ZSHPCI 201 S Anion / R 100 x 4,6 mm, Vorsäule 201 SG Guard Column  
Stabilisierung: 0,185 % (v/v) Formaldehyd; 1 mmol/L Natriumhydroxid  
Schreiber/Integrator: Range 1, Zero SuppCoarse 2, Atten. 0, Speed 4, Min.Area1000,  
manuelle Nullpunkt-Korrektur um ca. -200 µS

*IC2:*

Laufmittel: 2,5 mmol/L Benzoesäure, 2,5 mmol/L Natriumbenzoat, pH-Wert 4,1  
Fluss: 1 mL/min  
Temperatur: 30 °C  
Säule: GAT ZSHPCI 201 S Anion / R 100 x 4,6 mm, Vorsäule 201 SG Guard Column;  
Stabilisierung: 0,185 % (v/v) Formaldehyd; 1 mmol/L Natriumhydroxid  
Schreiber/Integrator: Range 1, Zero SuppCoarse 2, Atten. 1, Speed 4, Min.Area1000  
Die Korrektur in den negativen Bereich konnte entfallen.

#### 5.3.1.2 Methoden der Ionenpaarchromatographie

*IPC1:*

Zusammensetzung Laufmittel A: 2 mmol/L Tetrabutylammoniumhydroxid; 2 mmol/L Phosphorsäure; 1 mmol/L Natriumcarbonat; Acetonitril / Wasser 30/70 (v/v); Laufmittel B: Acetonitril / Wasser 30/70 (v/v); Laufmittel C: Acetonitril;  
Fluss: 1 mL/min  
Gradient: LM A 100 % bei Start auf 0 % bei 10 min , linearer Gradient; LM B 0 % bei Start auf 100 % bei 10 min, LM B von 10 min bis 25 min 100 %, Laufmittel C ab 25 min 100 %  
Säule: Lichrosphere RP18, 250 x 4,6, 5 µm, 100 Å, endcapped

*IPC2:*

Zusammensetzung Laufmittel A; B und C s. IPC 1;  
Fluss: 1 mL/min  
Gradient: LM A 100 % bei Start auf 0 % bei 10 min , linearer Gradient; LM B 0 % bei Start auf 100 % bei 10 min, LM C ab 10 min bis 40 min von 0 % auf 100 %, ab 40 min bis max. 60 min 100% LM C  
Säule: Lichrosphere RP18, 250 x 4,6, 5 µm, 100 Å, endcapped

*IPC3*

Zusammensetzung Laufmittel A: 2,5 mmol/L Tetrabutylammoniumhydroxid; 2 mmol/L Phosphorsäure; 1 mmol/L Natriumcarbonat; Acetonitril / Wasser 25/70 (v/v); Laufmittel B: Acetonitril / Wasser 30/70 (v/v); Laufmittel C: Acetonitril;  
 Fluss: Start bis 20 min 1,5 mL/min, dann 2,5 mL/min  
 Gradient: LM A 100 % bei Start auf 0 % bei 10 min, linearer Gradient; LM B 0 % bei Start auf 100 % bei 10 min, LM B von 10 min bis 20 min 100 %, Laufmittel C ab 20 min 100 %  
 Säule: Lichrosphere RP18, 125 x 4,6, 5 µm, 100 Å, endcapped

*IPC4:*

Zusammensetzung Laufmittel A: 2,5 mmol/L Tetrabutylammoniumhydroxid; 2 mmol/L Phosphorsäure; 1 mmol/L Natriumcarbonat; Acetonitril / Wasser 25/70 (v/v); Laufmittel B: Acetonitril / Wasser 30/70 (v/v); Laufmittel C: Acetonitril;  
 Fluss: Start bis 20 min 1,5 mL/min, dann 2,5 mL/min  
 Gradient: LM A 100 % bei Start auf 0 % bei 10 min, linearer Gradient; LM B 0 % bei Start auf 100 % bei 10 min, LM B von 10 min bis 20 min 100 %, Laufmittel C ab 20 min 100 %  
 Säule: Säule: Discovery RP C16, Amide 250 x 4,6, 5 µm, 100 Å, endcapped  
 Alle Fließmittel wurden vor Verwendung filtriert und 30 min im Ultraschallbad entgast. Die verwendeten Fließmittel entsprachen „HPLC-grade“.

*IPC-LFD1:*

Zusammensetzung Laufmittel: 1,0 mmol/L Tetrabutylammoniumhydroxid; 1 mmol/L Phosphorsäure; 0,5 mmol/L Natriumcarbonat; Acetonitril / Wasser 15/85 (v/v);  
 Fluss: 1,0 mL/min,  
 Temperatur: 30 °C  
 Säule: Lichrosphere RP18, 125 x 4,6, 5 µm, 100 Å, endcapped

**5.3.1.3 Methoden der Hochdruckflüssigkeitschromatographie***HPLC-1a und HPLC-1b:*

Geräte und Apparatur wie oben beschrieben (s. 5.2.1.4),  
 Flussrate 1 mL/min, Temperatur 25 °C, Equilibrierung vor Tagesbeginn 2 Std. mit Laufmittel, Säulenregeneration je 20 min Cyclohexan, MeOH, LM, Detektorwellenlänge 254 nm, isokratische Arbeitsweise, Datenrate 400 ms, Länge eines Laufs a) 8 min, b) 3,5 min

*Extraktion von Schwefel*

Kalibrierung – Einwaage der doppelten Masse Schwefel (0,0004 g – 0,0018 g), Überführung ins Extraktionsgefäß (100 mL Erlenmeyerkolben mit Schliff und Stopfen), Zugabe von 20,0 mL Natriumthiosulfatlösung 10 g / 100 mL, 20,0 mL Reinstwasser, 2 mL Cyclohexan, Schütteln im Schüttelwasserbad bei 25 °C mit Frequenz  $\approx 100 \text{ min}^{-1}$ , Abnehmen der Hälfte der Wasserphase mit einer Spritze (10 mL und Kanüle), Überführen des restlichen Inhalts ins Reagenzglas, Abnehmen von 100 µl der Cyclohexanphase mit 100 µl Microliterspritze und Injektion in die 20 µl Probenschleife,

Ampullen – Überführen des Ampulleninhalts (10 mL) ins Extraktionsgefäß, Spülen der Ampullenwand mit 2 mal 5,0 mL Wasser zur quantitativen Überführung des Schwefels, Zugabe des Wassers zum Extraktionsgefäß, Zugabe von 1,0 mL Cyclohexan, Schütteln im Schüttelwasserbad bei 25 °C mit Frequenz  $\approx 100 \text{ min}^{-1}$ , Überführen des Inhalts ins Reagenzglas, Abnehmen von 100 µl der Cyclohexanphase mit 100 µl Microliterspritze und Injektion in die 20 µl Probenschleife, gegebenenfalls Verdünnung des Cyclohexans,

### 5.3.1.4 Methoden der Kapillarzonelektrophorese

Der Zuschnitt der Kapillaren auf die benötigte Länge erfolgte nach Bedarf entsprechend der Kapillarkassette von 10 m Material oder 1 m Material mit einem Keramik-Plättchen (Fa. Polymicro Techn.). Das Detektorfenster wurde eingebrannt und mit Methanol gereinigt. (Die Parameter während der Methodenentwicklung sind im Text angegeben.)

*Konditionierung der Kapillaren vor Erstgebrauch und bei Pufferwechsel / täglich:*

1 N NaOH	30 min / 10 min, 60 °C
0,1 N NaOH	30 min / 10 min, Arbeitstemperatur
Reinstwasser	30 min / 15 min, Arbeitstemperatur
Elektrolyt	60 min / 30 min, Arbeitstemperatur

#### *Allgemeines*

Probenaufgabe	1,5 mL Glasvial mit Kappe
Probenfiltration	0,20 µm Minisart-Filter ®
Pufferfiltration	0,45 µm Minisart-Filter ®
Vialbehandlung	Ultraschallbehandlung in Reinstwasser 20 min 10fach Spülung mit Reinstwasser

#### *CE 1*

Kapillare:	„fused silica“ $L_{\text{eff}}$ 70 cm; 75 µm ID;
Temperatur:	30 °C ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ )
Grundelektrolyt:	Pyromellitsäure 3 mmol/L aus methanolischer Stammlösung 300 mmol/L hergestellt Diethylentriamin 2 mmol/L aus methanolischer Stammlösung 200 mmol/L hergestellt
Feldstärke:	428 V/cm
pH-Wert:	7,5 ( $\pm 0,1$ )
Injektion:	hydrodynamisch 6 sec
Detektion:	indirekte Detektion mit Peakumkehr, $\lambda = 214 \text{ nm}$

### 5.3.1.5 Methoden der Polarographie

#### *DPP 1:*

Grundelektrolyt: Acetatpuffer pH 5,0 (0,168 mol/L Essigsäure mit 1N NaOH auf pH 5,00 eingestellt) Vorlage 20,00 mL, Gesamtvolumen: 25,00 mL  
Entlüften 600 s mit Puffer, dann Probenzugabe, 10 sec Rühren, 3 Messungen

U-begin:	-500 mV
U-end:	-800 mV
Dropsizes:	4
U-ampl:	-50 mV
t-step:	0,80 s
t-meas:	20 ms
t-pulse:	60 ms
U-step :	6 mV
U-verify:	-610 mV

*DPP2*

Grundelektrolyt: Acetatpuffer pH 5,0 (0,168 mol/L Essigsäure mit 1N NaOH auf pH 5,00 eingestellt) Vorlage 20,00 mL, Gesamtvolumen: 21,00 mL

Entlüften 600 s mit Puffer, dann Probenzugabe, 10 sec Rühren, 3 Messungen

U-begin: 0 mV  
U-end: -600 mV  
Dropsize: 4  
U-ampl: -50 mV  
t-step: 0,80 s  
t-meas: 20 ms  
t-pulse: 60 ms  
U-step : 6 mV  
U-verify:  $\approx$  -210mV

*DPP 3:*

Grundelektrolyt: 0,1 N NaOH-Lösung vorgelegt (Ampulle), Vorlage 20,00 mL

Gesamtvolumen: 25,00 mL

Entlüften 600 s mit Puffer, dann Probenzugabe, 10 sec Rühren, 3 Messungen

U-begin: -500 mV  
U-end: -900 mV  
Dropsize: 4  
U-ampl: -50 mV  
t-step: 0,80 s  
t-meas: 20 ms  
t-pulse: 60 ms  
U-step: 6 mV  
U-verify: -725 mV

**5.3.1.6 Titrationsverfahren***Biamp1:*

Potentialdifferenz 400 mV an einer Doppelplatinelektrode, Vorlage 200  $\mu$ l (25 %ige Lsg.) oder 500  $\mu$ l (10 %ige Lsg.), Zugabe von Reinstwasser zum Titranden 5,00 mL, Titration unter permanentem Rühren (Magnetrührer, Becherglas), EDV-gesteuerte Titrationsüberwachung und Datenerfassung (s. Geräte), Tropfenvolumen 1 Step 30  $\mu$ l,  $v = 3,0$  mL/min, Iod-Maßlösungen 0,05 mol/L (Ampulle), Faktor 0,831 und 0,875,

*Pufferkapazität:*

pH-Meter WTW pH 522; Glaselektrode Mikro-pH Einstabmesskette mit Ag/AgCl-Bezugssystem N 6000 A, Schottgeräte GmbH Hofheim, Vorlage Injektionslösung 10,00 ml Titration unter permanentem Rühren (Magnetrührer, Becherglas), Bürette, HCl-Maßlösungen 1 mol/L (Ampulle Fixanal®), Faktor 1,020 (Einstellung mit Natriumcarbonat-Urtiter)

**5.3.1.7 Sonstige Verfahren***FTIR-Spektroskopie*

Parameter: 10 min evakuieren 10 mbar Enddruck, 15 min Pressdruck 10 t

Scans 32, Auflösung 1  $\text{cm}^{-1}$

Schichtdicke Pressling 1mm, Verreibung Substanz / Kaliumbromid  $\approx 2,5$  mg / 1 g

### Prüfung auf Sterilität

Rezeptur, Herstellung, Sterilisation und Beschickung der Medien:

s. Ph.Eur. Abschnitt 2.6.1, Agarmedium B (Agarmedium mit Casein- und Sojapepton) – für Bakterien-Anzucht, Agarmedium C (Sabouraud-Medium) – für Pilz-Anzucht s. Ph.Eur.

Abschnitt 2.6.1, Sterilisierte Petrischalen Cellstar® 94/16mm Greiner Labortechnik

mikrobiologische Glasröhrchen, Pressstopfen, Nikon Licht-Mikroskop, Japan – Vergrößerung 1 x 1000 (Objektiv1 : 100, Okular 1 : 10) mit Nikon Immersionsöl

### UV/Vis-photometrische Untersuchungen

Spectralphotometer Shimadzu, Präzisions-Küvetten 1 cm Schichtdicke Quarz

Spalt 1; Scan „schnell“; Datenrate 0,5; Bereich 200 nm bis 800 nm;

Leerprobe und Verdünnungsmittel: Reinstwasser

Verdünnung der Lösungen durch Herstellung von Stammlösungen 0,1 %ig und Verdünnung mit Rücksicht auf die resultierenden Absorptionen auf 0,05 % bis 0,001 %

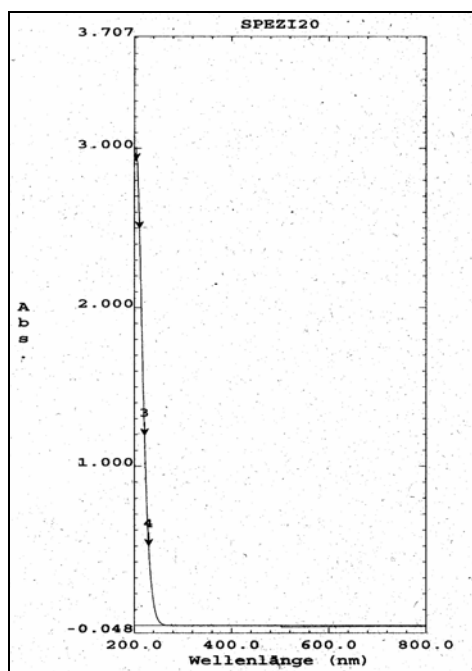


Abb. 119: UV/Vis Spektrum Sulfit.

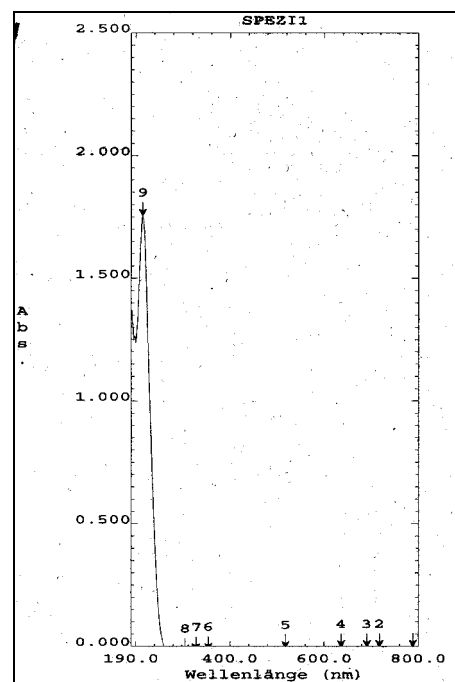


Abb. 120: UV/Vis Spektrum Thiosulfat

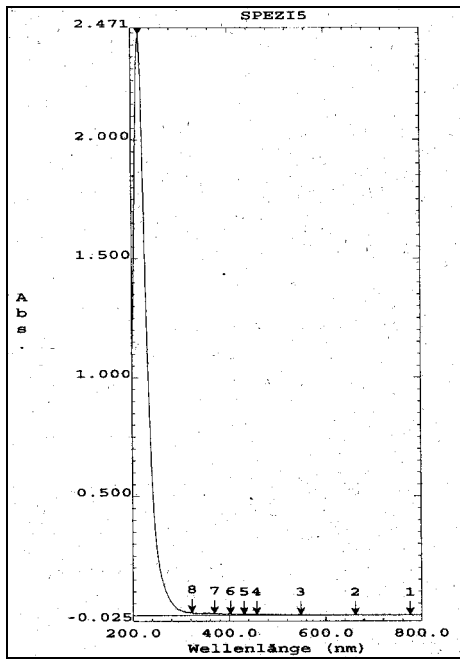


Abb. 121: UV/Vis Spektrum Tetrathionat.

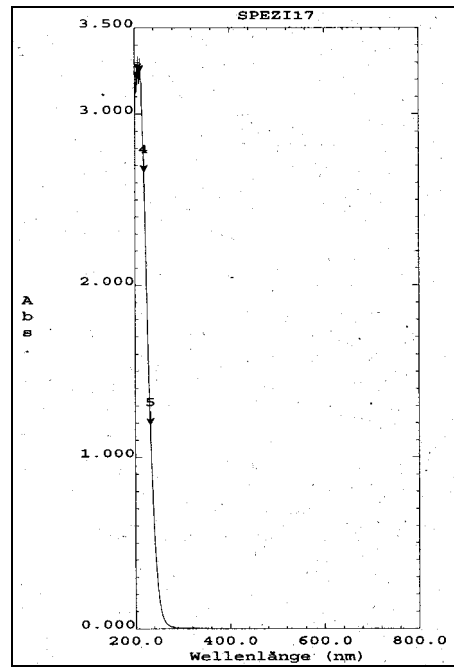


Abb. 122: UV/Vis Spektrum  
Trithionat/Thiosulfat.

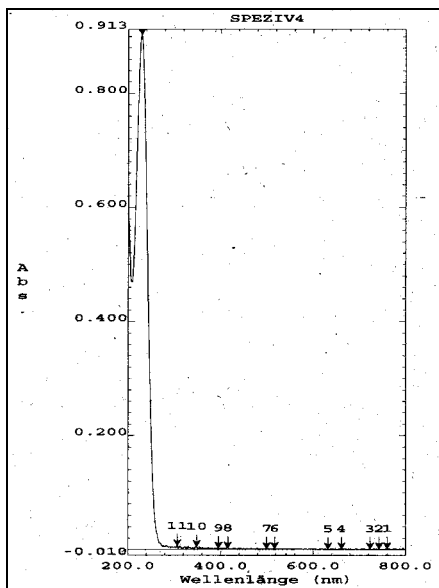


Abb. 123: UV/Vis Spektrum Sulfid.

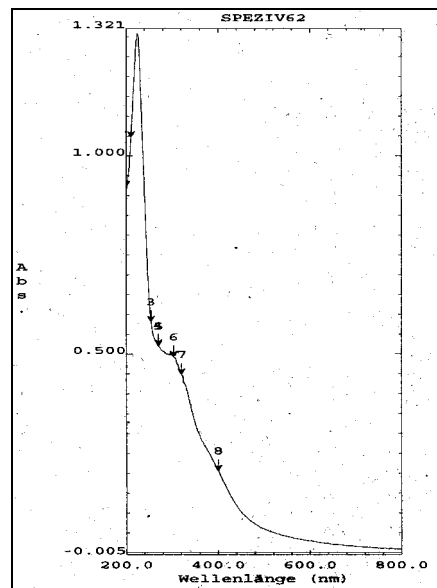


Abb. 124: UV/Vis Spektrum  
Polysulfid.

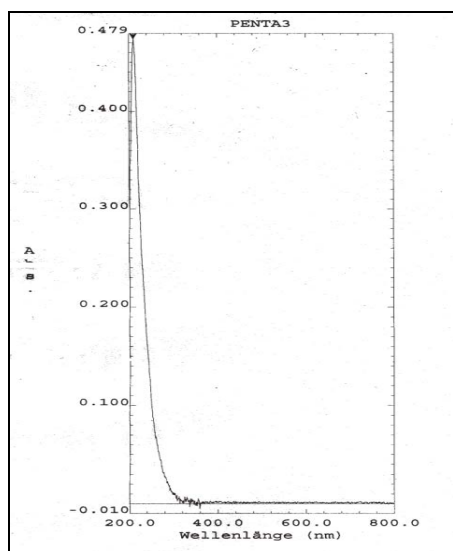


Abb. 125: UV/Vis Spektrum Pentathionat.

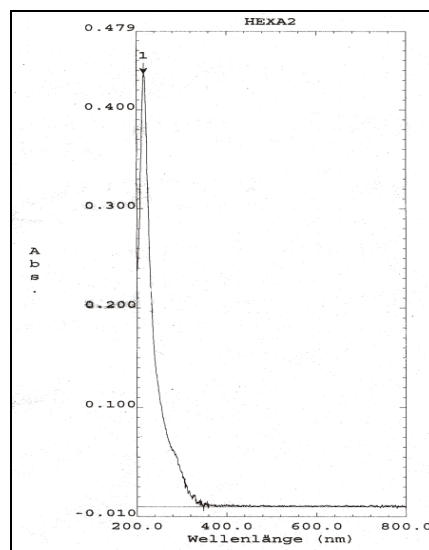


Abb. 126: UV/Vis Spektrum Hexathionat.



*Allgemeine Stammlösungen*

Stabilisatorlösung für Sulfit:	5,00 mL/L Formaldehyd 37 % 1,00 mL/L Natriumhydroxidlösung 1N Reinstwasser ad 1 L
methanolische Stabilisatorlösung:	15,0 mL Methanol p.a. Reinstwasser ad 1 L
Natriumthiosulfat-Lsg. 20 g /100 mL	20,000 g Natriumthiosulfat-Pentahydrat Reinstwasser ad 100 mL
Natriumthiosulfat-Lsg. 10 g /100 mL	10,000 g Natriumthiosulfat-Pentahydrat Reinstwasser ad 100 mL

Stammlösungen der Ionen 1000 µg/mL (bezogen auf das Anion) in Reinstwasser oder Stabilisatorlösung

**5.3.2 Durchgeführte Synthesen und präparative Arbeiten****5.3.2.1 Synthese von Kaliumpentathionat und Kaliumhexathionat***Kaliumpentathionat*

Vorbereitung:

Lösen von 25,5 g Schwefeldichlorid in 100 mL Tetrachlorkohlenstoff in einem 1 L

Weithalsgefäß; Abkühlen im Eisbad auf -15 °C = Lösung A

Lösen von 125 g Natriumthiosulfat Pentahydrat in 200 mL Wasser in einem 250 mL

Erlenmeyerkolben; Abkühlen im Eisbad auf 0 °C = Lösung B

Mischen von 100 mL Salzsäure 36 %ig mit 100 mL Wasser; Abkühlen auf 0 °C = Lösung C

Lösen von 16,2 g Eisen-(III) chlorid Hexahydrat in 200mL Wasser; Abkühlen der Lösung auf 0 °C = Lösung D

Lösen von 10,0 g Kaliumhydroxid in 50 mL Methanol , Abkühlen 0 °C = Lösung E

Zugabe von 3,6 g Salzsäure 36 %ig zu 80 mL Wasser (Messkolben), Auffüllen auf 100 mL = Lösung F

Ablauf:

Lösungen B und C gleichzeitig rasch zur Lösung A zugießen, Verschließen des Weithalskolbens mit einem Schliffstopfen und kräftig schütteln und weiter kühlen (max. Erwärmung des Reaktionsgemisches auf 0 °C) → die Lösung entfärbt sich innerhalb von etwa 20 sec, die wässrige Schicht ist fast klar und nur wenig von Schwefel getrübt; Zugabe von temperierter Lösung D, bis die wässrige Schicht hellgelb erscheint (etwa 65 mL), Trennung der

wässrigen von der organischen Phase im Scheidetrichter; zügiges Eindampfen der wässrigen Lösung am Rotationsverdampfer bei max. Unterdruck und 40 °C Wasserbadtemperatur auf etwa 85 mL (Rundkolben in Schrägstellung vorher markieren), Filtration im Büchnertrichter (Abscheiden von Natriumchlorid), Abkühlen der Lösung auf 0 °C im Eisbad, tropfenweise Zugabe der temperierten Lösung E (max. Erwärmung des Reaktionsgemisches auf 10 °C) → Abbruch bei Abscheidung von grünlichem Hydroxid (ca. pH von 3) und Abkühlen der Lösung auf 0 °C, Absaugen des Kristallbreis, Waschen der Kristalle mit Aceton, Trocknen der Kristalle auf einer Tonkachel → Ausbeute 44,3 g  $\text{K}_2\text{S}_5\text{O}_6 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ; Eintragen der Kristalle in ca 90 mL auf 60 °C erwärmte Lösung F (0,5 N HCl) (es erfolgt eine Abkühlung der Lösung) und rasches Erwärmen auf 50 °C, Filtrieren durch einen Warmwassertrichter bei etwa 50 °C, Eintragen der Lösung in auf Eis gestellte Kristallisierschale → es scheiden sich weiße, sternförmige Kristalle ab; Absaugen der Kristalle und waschen mit Ethanol, Trocknen der Kristalle auf einer Tonkachel → Ausbeute 16,7 g  $\text{K}_2\text{S}_5\text{O}_6 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$

#### *Kaliumhexathionat*

##### Vorbereitung:

Lösen von 27 g Schwefeldichlorid in 100 mL Tetrachlorkohlenstoff in einem 1 L Weithalsgefäß; Abkühlen im Eisbad auf -15 °C = Lösung A

Lösen von 100 g Natriumthiosulfat Pentahydrat in 150 mL Wasser in einem 250 mL Erlenmeyerkolben; Abkühlen im Eisbad auf 0 °C = Lösung B

Mischen von 80 mL Salzsäure 36 %ig mit 80 mL Wasser; Abkühlen auf 0 °C = Lösung C

Lösen von 16,2 g Eisen-(III) chlorid Hexahydrat in 100mL Wasser; Abkühlen auf 0 °C = Lösung D

Lösen von 20,0 g Kaliumhydroxid in 100 mL Methanol , Abkühlen 0 °C = Lösung E

Zugabe von 14,4 g Salzsäure 36 %ig zu 80 mL Wasser (Messkolben), Auffüllen auf 100 mL = Lösung F

##### Ablauf:

Lösungen B und C gleichzeitig rasch zur Lösung A zugießen, Verschließen des Weithalskolbens mit einem Schliffstopfen, kräftig schütteln und weiter kühlen (max. Erwärmung des Reaktionsgemisches auf 0 °C) → die Lösung entfärbt sich innerhalb von etwa 20 sec, die wässrige Schicht ist fast klar und nur wenig von Schwefel getrübt; Zugabe von temperierter Lösung D, bis die wässrige Schicht hellgelb erscheint (etwa 20 mL), Trennung der wässrigen von der organischen Phase im Scheidetrichter; zügiges Eindampfen der wässrigen Lösung am Rotationsverdampfer bei max. Unterdruck und 35 °C Wasserbadtemperatur auf etwa 50 mL (Rundkolben in Schrägstellung vorher markieren), Filtration im Büchnertrichter (Abscheiden von Natriumchlorid), Abkühlen der Lösung auf 0 °C im Eisbad, tropfenweise Zugabe der temperierten Lösung E (max. Erwärmung des Reaktionsgemisches auf 10 °C) → Abbruch bei Erreichen von ca. pH von 1-2 (Indikatorpapier Stuphan®, Verbrauch etwa 42 mL) und Abkühlen der Lösung auf 0 °C, Absaugen des Kristallbreis, zweifaches Waschen der

Kristalle mit je 50 mL Aceton, Trocknen der Kristalle auf einer Tonkachel → Ausbeute 38,3 g  $K_2S_6O_6$ ; Eintragen der Kristalle in ca. 30 mL Lösung F (2 N HCl); rasches Erwärmen auf 60 °C und schnelles Abkühlen auf 0 °C, → es scheiden sich weiße Kristalle ab; Absaugen der Kristalle und Waschen mit Ethanol, Trocknen der Kristalle auf einer Tonkachel → Ausbeute 7,7 g  $K_2S_6O_6$

### 5.3.2.2 Untersuchung der Syntheseprodukte – Polythionate

Tab. 38: Beurteilung der Schwingungszahlen und Banden charakteristischer Peaks in den FT-IR-Spektren der Polythionate und Vergleich mit der Literatur.

Zuordnung	Tetrathionat		Pentathionat		Hexathionat	
	$\nu$ in $\text{cm}^{-1}$		$\nu$ in $\text{cm}^{-1}$		$\nu$ in $\text{cm}^{-1}$	
	1621,51	m	1652,31	m		
$\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3)$					1259,10	m
$\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3)$	1236,00	vs b A!			1242,88	s
$\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3)$			1212,92	vs b	1219,51	vs
$\nu_{\text{s}}(\text{SO}_3)$	1054,25	m sh	1032,69	m sh	1043,84	s
$\nu_{\text{s}}(\text{SO}_3)$	1029,21	s	1022,21	s	1027,19	m
$\delta_{\text{s}}(\text{SO}_3)$	668,57	vw sh	668,57	vw sh	669,97	vw sh
$\delta_{\text{s}}(\text{SO}_3)$	630,54	s b A!	638,67	w sh	637,29	s b
$\delta_{\text{s}}(\text{SO}_3)$			616,21	s b	617,48	w sh
$\delta_{\text{as}}(\text{SO}_3)$					551,40	vw sh
$\delta_{\text{as}}(\text{SO}_3)$	524,67	m b	530,26	m b	545,52	w
$\delta_{\text{as}}(\text{SO}_3)$					519,41	w
$\delta_{\text{as}}(\text{SO}_3)$					507,52	vw
$\nu_{\text{(SS)}}$			475,91	w b		
$\nu_{\text{(SS)}}$	435,28	w b	457,10	vw		
$\nu_{\text{(SS)}}$			418,99	vw		

vw sehr schwach; w schwach; m mittel; s stark; vs sehr stark; sh Schulter; b breit; A! ungenügende Auflösung erkennbar, Schulter angedeutet;  $\nu$  Valenzschwingung;  $\delta$  Deformationsschwingung;

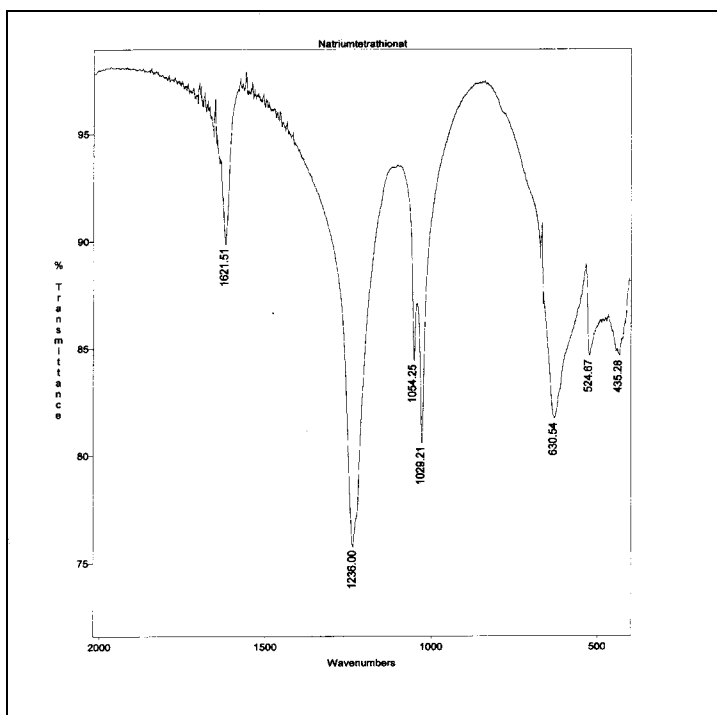


Abb. 127: FTIR-Spektrum von Natriumtetrathionat – handelsübliches Produkt.

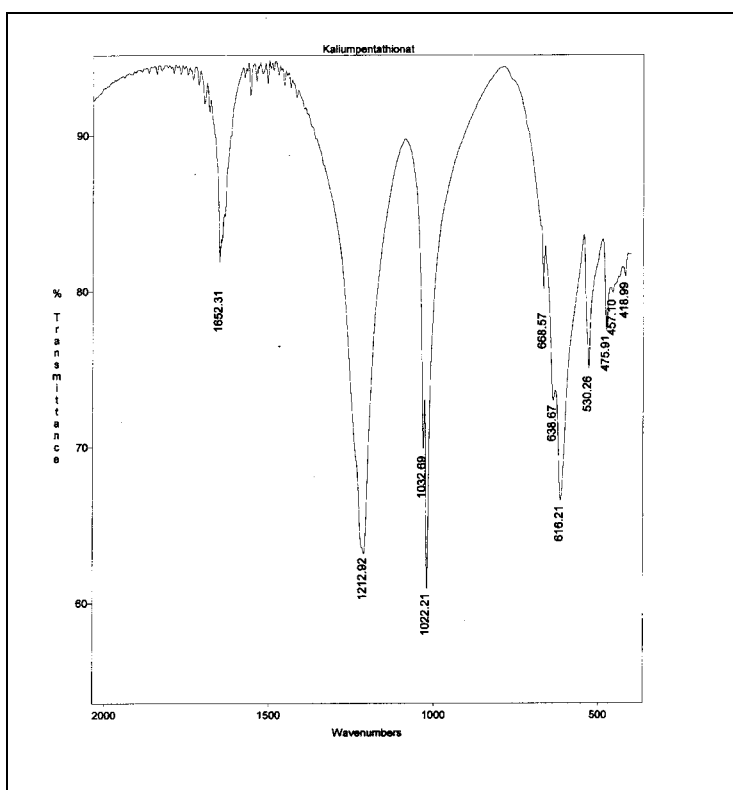


Abb. 128: FTIR-Spektrum von Kaliumpentathionat – Syntheseprodukt.

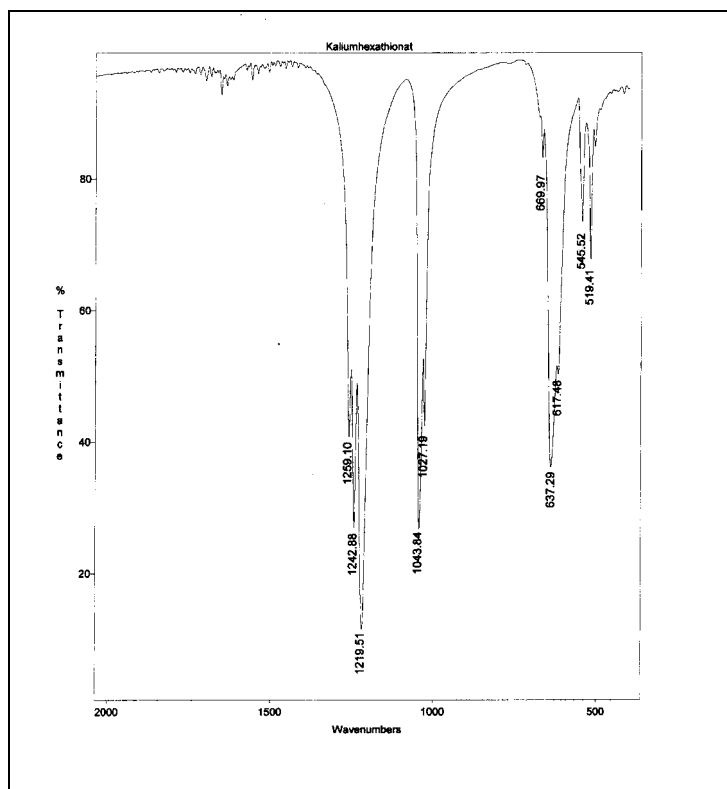


Abb. 129: FTIR-Spektrum von Kaliumhexathionat – Syntheseprodukt.

Die Reinheit der Syntheseprodukte wurde durch Ionenpaarchromatographie geprüft. Der Peakfläche nach dem Umkristallisieren betrug für Pentathionat 98,56 Flächen-% und für Hexathionat 98,84 Flächen-%.

### 5.3.2.3 Präparation von Schwefelsol („Raffo-Sol“)

Vorbereitung:

Lösen von 74,4 g Natriumthiosulfat Pentahydrat in 80 mL Wasser und Auffüllen auf 100 mL (Messkolben) und Einfüllen der Lösung in einen Tropftrichter – Lösung A

Vorlage von 10 mL 96 %ige Schwefelsäure [Rundkolben mit Schliff; Magnetrührer, Positionierung des Kolbens in einer Kristallisierschale, Bereithalten einer Kältemischung (NaCl : Eis 1 : 3)] – Lösung B

Eintragen von 80 g Natriumchlorid in 200 g Wasser (gesättigte Lösung) – Lösung C

Ablauf:

Zugeben von 30 mL der Lösung A tropfenweise innerhalb von ca. 25 min zu der Lösung B unter ständigem Rühren, Abkühlen des Reaktionsgemisches im Eisbad auf 0 °C für 30 min, Zugabe von 100 mL Lösung C → vollständige Fällung, nach 15 min Zentrifugieren und Dekantieren, anschließend eintragen und resuspendieren des Präzipitates in 200 mL Wasser und

10 min Zentrifugieren und Dekantieren vom unlöslichen Anteil, Zugabe von 50 mL der Lösung C → Präzipitation des Sols, Zentrifugieren und Dekantieren des Überstandes, noch 2maliges Wiederholen von Resuspendieren, Präzipitieren, Zentrifugieren und Resuspendieren des Sols; Lagerung des Sols unter Lichtschutz

#### 5.3.2.4 Präparation von Wackenroder'scher Flüssigkeit

Es wurde reines Schwefelwasserstoff-Gas  $\text{H}_2\text{S}$  (+99,5 %) 30 min durch schweflige Säure  $\text{H}_2\text{SO}_3$  (5-6 %; z. Analyse) durchgeleitet. Die Lösung befand sich in einer Waschflasche, die gesamte Apparatur wurde unter einem Abzug aufgebaut. Die Waschflasche wurde vor Licht geschützt. Es konnte nach 30 min eine leicht opaleszierte Trübung und Abscheidungen von Schwefel beobachtet werden. Die Lösung wurde ausschließlich frisch verwendet.

#### 5.3.2.5 Präparation von Polysulfid-Lösung

Es wurden je nach vorgesehener Kettenlänge molekularer Schwefel in stöchiometrischem Verhältnis mit Natriumsulfid versetzt und in wässriger Lösung auf einer Heizplatte unter Rühren und unter Rückfluss 30 min erhitzt. Die Lösungen verfärbten sich dunkelrotbraun. Die Zugabe der Polysulfidlösung zu Aceton resultierte in einer grünlich-blauen Färbung. Die Lösungen wurden unter Stickstoff, dunkel und kühl gelagert.

### 5.3.3 Protokolle der Ampullenherstellung

<u>Nr.</u>	<u>Zusammensetzung</u>		<u>Besonderheiten</u>
<b>I</b>	Natriumthiosulfat Pentahydrat	50,0 g	Filtration des Ansatzes
	Aqua ad Inj.	ad 500 mL	pH vor Sterilisation $\approx 8,0$ nach Autoklavieren pH $\approx 6,0$
<b>II</b>	Natriumthiosulfat Pentahydrat	80,00 g	pH vor Sterilisation $\approx 7,5$
	Natriumdisulfit	0,080 g	nach Autoklavieren pH $\approx 6,4$ ,
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,040 g	10 %ige Lösung
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,896 g	
	NaEDTA	0,800 g	
	Aqua ad Inj.	ad 800 mL	

<b>III</b>	Natriumthiosulfat Pentahydrat	50,00 g	pH vor Sterilisation $\approx 8,5$
	Natriumdisulfit	0,05 g	Ansatz filtriert
	verdünnte NaOH	q.s.	nach Autoklavieren pH $\approx 7,1$
	Aqua ad Inj.	ad 500 mL	<i>10 %ige Lösung</i>
<b>IV</b>	Natriumthiosulfat Pentahydrat	40,00 g	Salzlösung pH $\approx 8,0$
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> * 12 H <sub>2</sub> O	3,322 g	durch NaOH-Zugabe pH $\approx 9,0$
	NaOH	0,005 g	nach Autoklavieren pH $\approx 8,2$
	Aqua ad Inj.	ad 400 mL	<i>10 %ige Lösung</i>
<b>V</b>	Natriumthiosulfat Pentahydrat	500,00g	Salzlösung pH $\approx 8,0$
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> * 12H <sub>2</sub> O	40,26 g	durch NaOH-Zugabe pH $\approx 9,4$
	NaOH	0,068g	Ansatzautoklavierung 15 min.
	Aqua ad Inj.	ad 2000 mL	pH 8,9 nach Autoklavieren <i>25 %ige Lösung</i>
<b>IX</b>	Natriumthiosulfat Pentahydrat	200,00 g	Salzlösung pH. $\approx 8,0$
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> * 2H <sub>2</sub> O	20,02 g	durch NaOH-Zugabe NaOH $\approx 9,5$
	NaOH	0,064 g	Ansatzautoklavierung 15 min
	Aqua ad Inj.	ad 2000 mL	pH $\approx 9,0$ nach Autoklavieren <i>10 %ige Lösung</i>

Das Natriumthiosulfat wurde im Ansatzbehälter (Becherglas) zu dem Anteil (ca. 5/6) an vorgelegtem Wasser für Injektionszwecken zugefügt und unter Rühren und Temperieren auf 35 °C gelöst. Je nach Rezeptur wurden die entsprechenden Hilfsstoffe (Natriumdisulfit, Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat oder -Dodecahydrat, Kaliumdihydrogenphosphat, NaEDTA) zugegeben und gelöst. Das Natriumhydroxid wurde, falls vorgesehen, in wenig Wasser gelöst und der pH-Wert auf den Sollwert eingestellt (Glaselektrode) oder die gesamte vorgegebene Menge zugegeben. Die Lösung wurde mit WFI bis zum entsprechenden Volumen aufgefüllt. Die Lösung wurde filtriert, in Ampullen zu 10 mL abgefüllt und sterilisiert (121 °C, 30 min, 0,2 MPa) Bei geteilten Ansätzen wurde nur eine Hälfte der Ampullen sterilisiert („B“), die andere Hälfte der Charge wurde nur aseptisch mit wiederholter Sterilfiltration („A“) abgefüllt. Bei Ansatzsterilisation wurde der Ansatz in Bluko-Flaschen 500 mL gefüllt und sterilisiert. Anschließend wurde die Lösung filtriert und Ampullen abgefüllt und wie beschrieben weiter behandelt.

Es wurde der pH-Wert nach Sterilisation bestimmt. Bei allen Lösungen war ein Abfall des pH-Wertes zu beobachten. Bei den Injektionslösungen I bis III wiesen die sterilisierten Lösungen bereits feinste Partikel und Schwebeteilchen auf. Die Lösung I wies einen leichten H<sub>2</sub>S-Geruch auf. Die Ampullen wurden auf Dichtigkeit im Blaubad geprüft und entsprachen den Anforderungen.

## Anhang – Tabellen

Tabelle 1: Kalibrierung Sulfit Ionenchromatographische Bestimmung IC1.

Konzentratione Sulfit $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Leitfähigkeitsänderung Peakhöhe $\Delta G$ in nS
5,0	1,1
5,0	0,7
5,0	1,1
7,0	1,4
7,0	1,4
7,0	1,8
14,0	3,6
14,0	3,6
14,0	2,9
20,0	4,6
20,0	5,0
20,0	4,6
25,0	5,7
25,0	5,4
25,0	6,4
30,0	8,6
30,0	7,9
30,0	8,6
40,0	10,7
40,0	10,7
40,0	10,0

Tabelle 2: Statistik der Geraden IC1Sulfit.

$b$	0,274997	$SAQy$	194,74
$s_b$	0,00858	$SAQx$	2864,57
$r^2$	0,9818	$MWx^2$	405,73
$F$	1027,24	$MWx$	20,14
$s_{\text{sreg}}$	216,629	$MWy$	5,0
$a$	-0,50525	$1/n$	0,04762
$s_a$	0,19978	$1/m$	0,333
$s_{xy}$	0,45922	$t_{f,\alpha} 0,05, \text{eins}$	1,73
$df = n-2$	19	$t_{f,\alpha} 0,05, \text{zweis}$	2,09
$SS_{\text{resid}}$	4,0068	$1/k$	0,33
$s_{x0}$	1,6699	$V_{k_{x0}}$	8,29



Tabelle 3: Wiederfindung IC1Sulfit.

Konzentr. d. Einwaage	Konzentration der Wiederfindung		Fehler absolut	Fehler prozentual	Standardabweichung des Gehalts	
$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in %	$f_{\text{abs.}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{proz}}$ in %	$s$ in $\mu\text{g/mL}$	$VK$ in %
20,0	18,69	93,43	-1,31	-6,57	1,032	5,521
20,0	19,17	95,85	-0,83	-4,15	1,031	5,379
14,0	14,93	106,63	0,93	6,63	1,044	6,990

Tabelle 4: Bestimmung von Sulfit Ionenchromatographie.

Charge	Peakhöhe $h_1$ in nS	Peakhöhe $h_2$ in nS	Peakhöhe $h_{\text{MW}}$ in nS	$c$ in $\mu\text{g/mL}$
IB1	4,6	5,0	4,8	19,4
IA2	4,6	4,5	4,6	18,4
IB2	4,6	5,0	4,8	19,4
IB3	4,3	3,9	4,1	16,8
IIB1	0,0	0	0	0
IIA2	0,0	0,0	0,0	0
IIB2	0,0	0,0	0,0	0
IIB3	0,0	0,4	0,2	2,5
IIIB1	4,3	4,3	4,3	17,4
IIIA2	5,0	5,4	5,2	20,7
IIIB2	3,9	4,3	4,1	16,8
IIIB3	1,4	1,4	1,4	7,0
IVA1	0	0	0	0
IVB2	0	0	0	0
IVA2	0	0	0	0
IVB2	0	0	0	0
IVA3	*	*	*	0
IVB3	*	*	*	0
IXA1	*	*	*	0
IXB1	*	*	*	0
IXA2	*	*	*	0
IXB2	*	*	*	0
IXA3	*	*	*	0
IXB3	*	*	*	0
Amer.Reag	§	§	§	0
Apoteksbol.	§	§	§	0
Köhler 96	§	§	§	0
Köhler 97	§	§	§	0

\* Wert kleiner NWG;

§ Chromatogramm nicht auswertbar

Tabelle 5: Kalibrierung Sulfat Ionenchromatographische Bestimmung IC2.

Konzentratione Sulfat $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Leitfähigkeitsänderung Peakhöhe $\Delta G$ in nS
25,0	4,3
25,0	5,0
50,0	11,4
50,0	10,0
100,0	19,3
100,0	21,4
200,0	42,1
200,0	41,4
300,0	65,0
300,0	64,3
400,0	84,3
400,0	85,7
500,0	109,3
500,0	108,6

Tabelle 6: Tabelle Bestimmung von Sulfat Ionenchromatographie.

Charge	Peakhöhe $h_1$ in nS	Peakhöhe $h_2$ in nS	Peakhöhe $h_{MW}$ in nS	Konzentration $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Konzentration unverdünnt $c$ in $\mu\text{g/mL}$
IB1	79,8	82,0	80,9	376,1	376,1
IA2	67,0	62,7	64,9	302,5	302,5
IB2	72,0	74,1	73,1	340,1	340,1
IB3	29,9	27,1	28,5	135,5	135,5
IIB1	117,6	121,2	119,4	552,9	552,9
IIA2	87,0	86,3	86,6	402,3	402,3
IIB2	106,2	108,4	107,3	497,2	497,2
IIB3	60,6	61,3	61,0	284,5	284,5
IIIB1	128,3	124,8	126,5	585,6	585,6
IIIA2	59,9	64,2	62,0	289,4	289,4
IIIB2	55,6	59,2	57,4	268,1	268,1
IIIB3	44,2	41,4	42,8	201,0	201,0
IVA1	69,9	74,1	72,0	335,2	335,2
IVB1	59,9	62,7	61,3	286,1	286,1
IVA2	44,2	42,8	43,5	204,3	204,3
IVB2	42,8	44,9	43,8	205,9	205,9
IVA3	22,1	22,8	22,5	107,7	107,7
IVB3	23,5	23,5	23,5	112,6	112,6
IXA1	49,9	51,3	50,6	237,0	237,0
IXB1	52,8	54,9	53,8	251,7	251,7
IXA2	28,5	28,5	28,5	135,5	135,5

Charge	Peakhöhe $h_1$ in nS	Peakhöhe $h_2$ in nS	MW Peakhöhe $h$ in nS	Konzentration $c$ in µg/mL	Konzentration unverdünnt $c$ in µg/mL
IXB2	39,9	40,6	40,3	189,5	189,5
Köhler96	29,9	30,7	30,3	143,7	143,7
Köhler97	22,8	23,5	23,2	111,0	111,0
AmReag	46,3	47,1	46,7	219,0	219,0
Apobo15%	19,2	18,5	18,9	91,3	137,0
Anfarm25%	19,2	16,4	17,8	86,4	216,0
Köhler25% 96	23,5	22,8	23,2	111,0	277,4
Köhler25% 98	12,8	15,7	14,3	70,0	175,1

Tabelle 7: Statistik der Geraden Methode IC2 Sulfat.

$b$	0,21779	$SAQ_y$	18867,49
$s_b$	0,0017	$SAQ_x$	397500
$r^2$	0,9993	$MW_x^2$	50625
$F$	17194,1	$MW_x$	225
$s_{\text{streg}}$	18854,3	$MW_y$	48,0
$a$	-0,9925	$1/n$	0,07143
$s_a$	0,46689	$1/m$	0,5
$s_{xy}$	1,04717	$t_{f,\alpha 0,05,\text{eins}}$	1,78
$df = n-2$	12	$t_{f,\alpha 0,05,\text{zweis}}$	2,18
$ss_{\text{resid}}$	13,159	$1/k$	0,33
$s_{x0}$	4,8082	$Vk_{x0}$	2,14

Tabelle 8: Wiederfindung IC 2 Sulfat.

Konzentration d. Einwaage	Konzentration der Wiederfindung	Fehler absolut	Fehler prozentual	Standardabweichung des Gehalts	
$c_E$ in µg/mL	$c_W$ in µg/mL	$c_W$ in %	$f_{\text{abs}}$ in µg/mL	$f_{\text{proz}}$ in %	$s$ in µg/mL
					$VK$ in %
350,0	336,8	96,2	-13,2	-3,77	3,73
300,0	291,0	97,0	-9,0	-3,00	3,67
50,0	45,5	91,0	-4,5	-9,05	3,88

Tabelle 9: Kalibrierung Polythionate Ionenpaarchromatographie IPC2.

Konzentration $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Peakfläche <sub>Tetra</sub> $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Peakfläche <sub>Penta</sub> $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Peakfläche <sub>Hexa-BW</sub> $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
0,25	9520	11590	
0,25	7853	10896	
0,25	8244	11590	
0,5	14520	22590	
0,5	14560	22555	
0,5	15340	22535	
1,0	28577	41826	33719
1,0	29900	43105	49786
1,0	28085	39040	22806
2,5	63890	114350	100986
2,5	69790	109420	101436
2,5	70510	110810	106286
5,0	140120	227530	184496
5,0	138470	225980	231711
5,0	140290	225855	199206
10,0	305280	475820	389066
10,0	298870	476280	400791
10,0	299400	479580	471051
20,0	598540	942825	783366
20,0	596830	947330	793781

Tabelle 10: Statistik der Geraden - Tetrathionat Methode IPC2.

$b$	29994,2	$SAQ_x$	719,93
$s_b$	176,33	$SAQ_y$	$6,48093 \cdot 10^{11}$
$r^2$	0,9994	$MW_x$	4,89
$F$	28934,27	$MW_x^2$	23,88
$SS_{reg}$	$6,476899 \cdot 10^{11}$	$MW_y$	143929
$a$	-2667,2	$1/m$	0,333
$s_a$	1364,54	$1/n$	0,05
$s_{xy}=s_o$	4731,27	$t_{f,\alpha,0,05,eins}$	1,73
$n-2=df$	18	$t_{f,\alpha,0,05,zweis}$	2,10
$SS_{resid}$	$4,029276 \cdot 10^8$	$1/k$	0,25
$s_{x0}$	0,1577	$VK_{x0}$	3,23

Tabelle 11: Statistik der Geraden - Pentathionat Methode IPC2.

$b$	47539,3	$SAQ_x$	719,93
$s_b$	178,60	$SAQ_y$	$1,62745 \cdot 10^{12}$
$r^2$	0,9998	$MW_x$	550
$F$	70854,53	$MW_x^2$	23,88
$SS_{reg}$	$1,62704 \cdot 10^{12}$	$MW_y$	228075
$a$	-4272,7	$1/m$	0,333
$s_a$	1382,05	$1/n$	0,05
$s_{xy}=s_o$	4791,98	$t_{f,\alpha 0,05,eins}$	1,73
$n-2=df$	18	$t_{f,\alpha 0,05,zweis}$	2,10
$SS_{resid}$	$4,13335 \cdot 10^8$	$1/k$	0,25
$s_{x0}$	0,1008	$VK_{x0}$	2,06

Tabelle 12: Statistik der Geraden - Hexathionat Methode IPC2.

$b$	39828,4	$SAQ_x$	545,30
$s_b$	1035,74	$SAQ_y$	$8,72035 \cdot 10^{11}$
$r^2$	0,9920	$MW_x$	6,82
$F$	1478,7	$MW_x^2$	46,53
$SS_{reg}$	$8,65015 \cdot 10^{11}$	$MW_y$	276320
$a$	4634,1	$1/m$	0,333
$s_a$	9576,13	$1/n$	0,0714
$s_{xy}=s_o$	24186,41	$t_{f,\alpha 0,05,eins}$	1,78
$n-2=df$	12	$t_{f,\alpha 0,05,zweis}$	2,18
$SS_{resid}$	$7,01979 \cdot 10^9$	$1/k$	0,25
$s_{x0}$	0,6073	$VK_{x0}$	8,9

Tabelle 13: Wiederfindung IPC2.

Ion	Konz. E.	Peakfläche	Konz. W.	Fehler abs.	Fehler proz.	Stabw.d. Gehalts	
	$c_E$	$A$	$c_W$	$f_{abs.}$	$f_{proz.}$	S	VK
	in $\mu\text{g/mL}$	in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	in $\mu\text{g/mL}$	in $\mu\text{g/mL}$	in %	in $\mu\text{g/mL}$	in %
Tetra $\approx$	5,0	143040	4,86	-0,14	-2,84	0,098	1,96
Penta $\approx$	5,0	219545	4,71	-0,29	-5,84	0,062	1,24
Hexa $\approx$	5,0	193881	4,75	-0,25	-4,97	0,390	7,80

Tabelle 14: Präzision Methode IPC 2.

Ion	Reproduzierbarkeit Peakfläche VK in % IPC2	Wiederholbarkeit Peakfläche VK in % IPC2
Tetrathionat	0,96	1,97
Pentathionat	1,97	2,03
Hexathionat	5,93	5,30

Tabelle 15: Peakflächen und Konzentration der Polythionate in den unverdünnten Natriumthiosulfat-Injektionslösungen, bestimmt mit IPC2.

Charge	Tetrathionat $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Pentathionat $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Hexathionat $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	$c_{\text{Tetra}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_{\text{Penta}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_{\text{Hexa}}$ in $\mu\text{g/mL}$
IB1	33870	16670	159185	1,22	0,44	0,70
IB2	45110	15605	143420	1,59	0,42	0,31
BWehr	437260	17390	175490	14,67	0,46	1,11
IIA2	173430	77150	189840	5,87	1,71	1,47
IIB2	144945	61615	189339	4,92	1,39	1,46
IVA1	15745	9620	137700	0,61	0,29	0,16
IVB1	15280	8350	151024	0,60	0,27	0,50
IVA2	12815	8965	170890	0,52	0,28	1,00
IVB2	24130	12350	208454	0,89	0,35	1,94

Tabelle 16: Polythionate in unverdünnten Injektionslösungen, bestimmt mit IPC2.

Charge	$c_{\text{Tetra}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_{\text{Penta}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_{\text{Hexa}}$ in $\mu\text{g/mL}$
IB1	1,22	0,44	0,70
IB2	1,59	0,42	0,31
BW Osnab. 90. 25%ig	1467	46	111
IIA2	5,87	1,71	1,47
IIB2	4,92	1,39	1,46
IVA1	0,61	0,29	0,16
IVB1	0,60	0,27	0,50
IVA2	0,52	0,28	1,00
IVB2	0,89	0,35	1,94

Tabelle 17: Kalibrierung Polythionate in Matrix - Ionenpaarchromatographie IPC3.

Konzentration $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Peakfläche <sub>Tetra</sub> $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Peakfläche <sub>Penta</sub> $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Peakfläche <sub>Hexa</sub> $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
2	101479	55080	9850
4	185139	102760	14815
8	333969	178910	24860
2	114687	56423	8216
4	198541	114397	13055
8	348652	180112	25741

Tabelle 18: Kennzahlen für Kalibrierung IPC3 Polythionate ( $k = 4$ ,  $\alpha = 0,05$ ,  $f = 4$ ).

	Tetrathionat	Pentathionat	Hexathionat
$\Delta a$	43373	18515	2268
$y_k$	76720	38801	5619
$x_{\text{NG}}$	1,122	0,916	0,831
$x_{\text{EG}}$	2,373	1,833	1,661
$x_{\text{BG}}$	2,353	3,57	3,28

Tabelle 19: Kalibrierung Polythionate Ionenpaarchromatographie IPC4.

Konzentration $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Tetrathionat Peakfläche $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Pentathionat Peakfläche $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Hexathionat Peakfläche $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$
0,35	33717	12570	2290
0,35	37292	13860	2890
0,35	32270	16220	1690
1	48770	31500	7050
1	44960	29860	4885
1	42350	31500	7140
2	73450	52065	14100
2	81930	58210	10045
2	74155	54955	8690
4	167615	104730	33665
4	143385	82945	27310
4	167385	106980	29935
8	303045	205255	54855
8	286587	225140	45700
8	284020	182170	42835

Tabelle 20: Statistik der Geraden – Tetrathionat IPC4.

$b$	34596,51	$SAQ_x$	113,99
$s_b$	893,09	$SAQ_y$	$1,37624 \cdot 10^{11}$
$r^2$	0,9914	$MW_x$	3,07
$F$	1500,6	$MW_x^2$	9,42
$SS_{reg}$	$1,3644 \cdot 10^{11}$	$MW_y$	121395
$a$	15184,08	$l/m$	0,333
$s_a$	3684,96	$l/n$	0,066
$s_{xy}=s_o$	9535,34	$t_{f,\alpha\ 0,05,\text{eins}}$	1,77
$n-2=df$	13	$t_{f,\alpha\ 0,05,\text{zweis}}$	2,16
$SS_{resid}$	$1,18199 \cdot 10^9$	$l/k$	0,33
$s_{x0}$	0,2756	$VK_{x0}$	8,98

Tabelle 21: Statistik der Geraden – Pentathionat IPC4.

$b$	24641,21	$SAQ_x$	113,99
$s_b$	975,87	$SAQ_y$	$7,0627 \cdot 10^{10}$
$r^2$	0,9800	$MW_x$	3,07
$F$	637,58	$MW_x^2$	9,42
$SS_{reg}$	$6,92159 \cdot 10^{10}$	$MW_y$	80530,7
$a$	4882,15	$1/m$	0,333
$s_a$	4026,53	$1/n$	0,066
$s_{xy}=s_o$	10419,21	$t_{\alpha 0,05\text{eins}}$	1,77
$n-2=df$	13	$t_{\alpha 0,05\text{zweis}}$	2,16
$SS_{resid}$	$1,41127 \cdot 10^9$	$1/k$	0,33
$s_{x0}$	0,4228	$VK_{x0}$	13,77

Tabelle 22: Statistik der Geraden – Hexathionat IPC4

$b$	6124,47	$SAQ_x$	113,99
$s_b$	386,76	$SAQ_y$	$4,4975 \cdot 10^9$
$r^2$	0,9507	$MW_x$	3,07
$F$	250,75	$MW_x^2$	9,42
$SS_{reg}$	$4,27583 \cdot 10^9$	$MW_y$	19538,66
$a$	736,51	$1/m$	0,333
$s_a$	1595,82	$1/n$	0,066
$s_{xy}=s_o$	4129,39	$t_{f,\alpha 0,05,\text{eins}}$	1,77
$n-2=df$	13	$t_{f,\alpha 0,05,\text{zweis}}$	2,16
$SS_{resid}$	$2,21675 \cdot 10^8$	$1/k$	0,33
$s_{x0}$	0,6742	$VK_{x0}$	21,96

Tabelle 23: Wiederfindung der Polythionate IPC4.

Ion	Konz. E.	Peakfläche	Konz. W.	Fehler abs.	Fehler proz.	Stabw.d. Gehalts	
	$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{abs.}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{proz.}}$ in %	S in $\mu\text{g/mL}$	VK in %
Tetra $\approx$	0,75	44245	0,84	0,09	12,00	0,18	24,48
	1,75	93504	2,26	0,51	29,36	0,18	10,03
	2	73450	1,68	-0,32	-15,79	0,18	8,90
Penta $\approx$	0,75	24330	0,79	0,04	5,23	0,28	37,64
	1,75	44820	1,62	-0,13	-7,38	0,27	15,63
	2	46200	1,68	-0,32	-16,16	0,27	13,65
Hexa $\approx$	0,75	4990	0,69	-0,06	-7,40	0,43	57,51
	1,75	9980	1,51	-0,24	-13,76	0,43	24,49
	2	7860	1,16	-0,84	-41,84	0,43	21,48



Tabelle 24: Konzentration der Polythionate in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen, Zubereitungen und Substanz –bestimmt mit IPC4.

Charge	F <sub>Verd.</sub>	C <sub>Tetrathionat</sub> in µg/mL	Bereich	C <sub>Pentathionat</sub> in µg/mL	Bereich	C <sub>Hexathionat</sub> in µg/mL	Bereich
IB1	2	1,43	> EG	0	nicht det.	0	nicht det.
IA2	2	1,77	> EG	0,29	<NG	0	nicht det.
IB2	2	1,90	> EG	0,94	>NG <EG	0	nicht det.
IB3	2	2,79	> BG	1,33	>NG <EG	0,42	<NG
IIB1	2	0,39	>NG <EG	0	nicht det.	0	nicht det.
IIA2	2	8,64	> BG	4,75	> BG	2,31	>NG <EG
IIB2	2	6,20	> BG	3,17	> BG	1,51	>NG <EG
IIB3	2	1,26	> BG	0	nicht det.	0	nicht det.
IIIB1	2	0,77	>NG <EG	0,21	<NG	0	nicht det.
IIIA2	2	0,81	>NG <EG	0,33	<NG	0	nicht det.
IIIB2	2	0,75	>NG <EG	0,43	<NG	0	nicht det.
IIIB3	2	0,42	<NG	0	nicht det.	0	nicht det.
IVA1	2	0,27	<NG	0	nicht det.	0	nicht det.
IVB1	2	0,41	<NG	0	nicht det.	0	nicht det.
IVA2	2	0,67	>NG <EG	0,46		0	nicht det.
IVB2	2	1,19	> EG	0,61	>NG <EG	0	nicht det.
IVA3	2	1,88	> EG	0,70	>NG <EG	0	nicht det.
IVB3	2	1,07	>NG <EG	0,45	<NG	0	nicht det.
IXA1	2	0,27	<NG	0,10	<NG	0,34	<NG
IXB1	2	0,61	< NG <EG	0,10	<NG	0	nicht det.
IXA2	2	0,18	<NG	0	nicht det.	0,28	<NG
IXB2	2	0,21	<NG	0	nicht det.	0	nicht det.
IXA3	2	0,33	<NG	0,11	<NG	0	nicht det.
IXB3	2	1,17	>NG <EG	0,23	<NG	0	nicht det.
VA2	5	0	nicht det.	0	nicht det.	0	nicht det.
VB2	5	0,54	<NG <EG	0,26	<NG	0	nicht det.
Köhler10%96	2	0	nicht det.	0	nicht det.	0	nicht det.
Amer. Reag.	2	0	nicht det.	0	nicht det.	0	nicht det.
Apotek.15%	2	0	nicht det.	0	nicht det.	0	nicht det.
Apotek.15%	3	0	nicht det.	0	nicht det.	0	nicht det.
Anfarm25%	5	1,85	> EG	0,22	<NG	0,24	<NG
Köhler25%	5	0	nicht det.	0	nicht det.	0	nicht det.
Mikrosol S.	1	3,03	> BG	1,42	>NG <EG	0,63	<NG
Thios.Riedel	2	0	> NG	0	nicht det.	0	nicht det.

Tabelle 25: Kalibrierung Thiosulfat Ionenpaarchromatographische Bestimmung IPC-LFD1.

Konzentration Thiosulfat $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Leitfähigkeitsänderung Peakhöhe $\Delta G$ in nS
20	92,9
20	92,9
20	91,4
30	135,7
30	128,6
30	125,7
45	181,4
45	182,8
45	184,3
55	204,3
55	205,7
55	207,1
70	257,1
70	258,6
70	254,3
80	287,1
80	287,1
80	288,6
90	314,3
90	312,8
90	314,3

Tabelle 26: Peakhöhen und Konzentration Natriumthiosulfat-Pentahydrat in den Injektionslösungen, bestimmt mit IPC-LFD1.

Charge	$F_{\text{verd.}}$	Peakhöhe $h_1$ in nS	Peakhöhe $h_2$ in nS	Peakhöhe $h_{\text{MW}}$ in nS	Konzentration $c_{\text{Thio}}$ in $\mu\text{g/mL}$ unverdünnt	Konzentration $c_{\text{Thio}}$ (als Pentahydrat) in g / 100 mL%
IB1	1000	184,3	184,3	184,3	47558,7	10,5
IA2	1000	202,8	202,8	202,8	53434,7	11,8
IB2	1000	197,1	194,3	195,7	51174,7	11,3
IB3	1000	191,4	192,8	192,1	50044,7	11,1
IIB1	1000	208,6	207,1	207,8	55016,7	12,2
IIA2	1000	211,4	211,4	211,4	56146,7	12,4
IIB2	1000	225,7	218,6	222,1	59536,7	13,2
IIB3	1000	208,6	225,7	217,1	57954,7	12,8
IIIB1	1000	188,6	188,6	188,6	48914,7	10,8
IIIA2	1000	197,1	197,1	197,1	51626,7	11,4
IIIB2	1000	188,6	185,7	187,1	48462,7	10,7

IIIB3	1000	214,3	211,4	212,8	56598,7	12,5
Charge	F <sub>verd.</sub>	Peakhöhe $h_1$ in nS	Peakhöhe $h_2$ in nS	Peakhöhe $h_{MW}$ in nS	Konzentration $c_{Thio}$ in µg/mL unverdünnt	Konzentration $c_{Thio}$ (als Pentahydrat) in g / 100 mL%
IVA1	1000	214,3	212,8	213,6	56824,7	12,6
IVB1	1000	212,8	212,8	212,8	56598,7	12,5
IVA2	1000	221,4	222,8	222,1	59536,7	13,2
IVB2	1000	225,7	224,3	225,0	60440,7	13,4
IVA3	1000	188,6	191,4	190,0	49366,7	10,9
IVB3	1000	220,0	222,8	221,4	59310,7	13,1
IXA1	1000	187,1	188,6	187,8	48688,7	10,8
IXB1	1000	182,8	178,6	180,7	46428,7	10,3
IXA2	1000	185,7	185,7	185,7	48010,7	10,6
IXB2	1000	202,8	201,4	202,1	53208,7	11,8
IXA3	1000	197,1	197,1	197,1	51626,7	11,4
IXB3	1000	194,3	194,3	194,3	50722,7	11,2
Kö96	1000	184,3	182,8	183,6	47332,7	10,5
Kö97	1000	181,4	182,8	182,1	46880,7	10,4
AmReag	1000	180,0	177,1	178,6	45750,7	10,1
Apobo	1515	188,6	187,1	187,8	73763,4	16,3
Anfarm	2500	188,6	188,6	188,6	122286,7	27,1
Kö25/98	2500	177,1	177,1	177,1	113246,7	25,1
Kö25/96	2500	180,0	180,0	180,0	115506,7	25,6
VA1	2500	188,6	198,6	193,6	126241,7	27,9
VB1	2500	182,8	187,1	185,0	119461,7	26,4

Tabelle 27: IPC FLD 1 Statistik der Geraden Thiosulfat-Bestimmung.

b	3,14870562	a	34,4269962
s <sub>b</sub>	0,03984706	s <sub>a</sub>	2,41677328
r <sup>2</sup>	0,99696637	s <sub>xy</sub>	4,37670344
F	6244,12363	df = n-2	19
ss <sub>reg</sub>	119609,516	ss <sub>resid</sub>	363,955127
MW <sub>x</sub>	55,7142857	1/m	0,33333333
MW <sub>x<sup>2</sup></sub>	3104,08163	1/n	0,04761905
SAQ <sub>x</sub>	12064,2857	s <sub>xo</sub>	1,22799781
MW <sub>y</sub>	209,9	VK <sub>xo</sub>	2,20409864
SAQ <sub>y</sub>	330030,165		

Tabelle 28: Wiederfindung IPC FLD 1 Thiosulfat-Bestimmung.

Konz. E $c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	Peakhöhe h in nS	Konz. W $c_{Wi}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{absolut}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{proz}}$ in %	Stabw. des Gehalts	
					s in $\mu\text{g/mL}$	VK in %
40	157,14	39,0	1,0	2,6	0,781	2,0
40	155,71	38,5	1,5	3,7	0,782	2,0
40	157,14	39,0	1,0	2,6	0,781	2,0
40	169,99	43,1	-3,1	-7,6	0,771	1,9
50	199,99	52,6	-2,6	-5,2	0,759	1,5
50	205,70	54,4	-4,4	-8,8	0,758	1,5
50	185,71	48,0	2,0	3,9	0,763	1,5
50	185,71	48,0	2,0	3,9	0,763	1,5
50	184,28	47,6	2,4	4,8	0,763	1,5
50	185,71	48,0	2,0	3,9	0,763	1,5
60	211,42	56,2	3,8	6,3	0,758	1,3
60	214,28	57,1	2,9	4,8	0,758	1,3
60	222,85	59,8	0,2	0,3	0,759	1,3
60	231,42	62,6	-2,6	-4,3	0,762	1,3

Tabelle 29: Schwefel in Cyclohexan gelöst HPLC-Bestimmung.

$c$ in $\mu\text{g/mL}$	$A$ in $\mu\text{AU*s}$	$A_0$ in $\mu\text{AU*s}$	$s$ in $\mu\text{AU*s}$	VK in %
100	1005675	1012602	10391	1,03
100	1024550			
100	1007580			
200	1958250	1970048	20133	1,02
200	1958600			
200	1993295			
350	3659630	3544810	195601	5,52
350	3318960			
350	3655840			
500	5069830	5105452	40647	0,80
500	5096795			
500	5149730			
600	6021850	6096135	75684	1,24
600	6093410			
600	6173144			
750	7548795	7567018	89941	1,19
750	7487584			
750	7664675			
900	8480609	8581531	124499	1,45
900	8543329			
900	8720655			

Tabelle 30: Statistik der Geraden Methode HPLC-1a.

$b$	9710,974591	$SAQ_y$	1,43081E+14
$s_b$	146,4908344	$SAQ_x$	1510714,286
$r^2$	0,99569	$MW_y$	4839656,476
$F$	4394,452049	$MW_x$	485,7142857
$ss_{reg}$	1,42465E+14	$MW_{x^2}$	235918,3673
$a$	122897,3891	$l/m$	0,333333333
$s_a$	81280,25736	$l/n$	0,047619048
$s_{xy}=s_o$	180053,5219	$t_{f,\alpha\ 0,05,eins}$	1,73
$n-2=df$	19	$t_{f,\alpha\ 0,05,zweis}$	2,09
$ss_{res}$	6,15966E+11	$l/k$	0,25
$s_{x0}$	18,54	$VK_{x0}$	3,8

Tabelle 31: Wiederfindung – Richtigkeit und Präzision Methode HPLC-1a.

Konz. E.	Peakfläche	Konz. W.	Fehler abs.	Fehler proz.	Stabw. d.G.
$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{abs.}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{proz.}$ in %	$s$ in $\mu\text{g/mL}$
200	2096380	203,22	3,22	1,61	$\pm 12,2116$
750	7450144	754,53	4,53	0,60	$\pm 12,1411$
750	7431950	752,66	2,66	0,35	$\pm 12,1317$

Tabelle 32: HPLC-Bestimmung Schwefel mit Cyclohexan extrahiert aus Natriumthiosulfatlösung.

Konzentration $S_8$	Peakfläche	Mittelwert	Stabw.	VK
$c$ in $\mu\text{g/mL}$	$A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	$A_0$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	$s$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	in %
0	92570	84255	11759	14
0	75940			
200	1216950	1232165	21517	1,75
200	1247380			
350	2374390	2356315	25562	1,08
350	2338240			
500	4161575	4187513	36681	0,88
500	4213450			
600	4954340	5012185	81805	1,63
600	5070030			
900	9344195	9352678	11996	0,13
900	9361160			
750	7738729	7585340	216926	2,86
750	7431950			

Tabelle 33: Statistik bei linearer und bei quadratischer Regression - Extraktion S<sub>8</sub> aus Natriumthiosulfat-Matrix und Bestimmung mit HPLC.

$b$	10563,85231	$SAQx$	1178571,429
$s_b$	539,7133258	$MWx$	471,4285714
$r^2$	0,969628363	$MWx^2$	222244,898
$F$	383,1054756	$Mwy$	4258635,643
$SS_{reg}$	1,31523E+14	$l/m$	0,5
$a$	-721466,16	$l/n$	0,083333333
$s_a$	298763,659	$Mwy$	4258635,643
$s_{xy}=s_o$	585923,7409	$t_{f,\alpha\ 0,05,eins}$	1,80
$n-2=df$	12	$t_{f,\alpha\ 0,05,zweis}$	2,20
$SS_{resid}$	4,11968E+12	$l/k$	0,333
$s_{x0}$	55,46	$VK_{x0}$	11,8
quadratische Regression:			
$a_0$	31174	$s_{a0}$	144587
$a_1$	4849,36	$s_{a1}$	706,452
$a_2$	6,33535	$s_{a2}$	0,749224
$SS_{reg}$	$5,49277*10^{11}$	$s_{xy}=s_o$	223460
$r^2$	0,9960	$n-3=df$	11

Tabelle 34: Wiederfindung Extraktion S<sub>8</sub> aus Natriumthiosulfat Bestimmung mit HPLC.

Konz. E.	Peakfläche	$c_{Wied}$	Fehler abs.	Fehler proz.
$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$A$ in $\mu\text{AU*s}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{abs.}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{proz.}$ in %
350	2505500,00	350,10	0,10	0,03
350	2785100,00	379,62	29,62	8,46
500	4499055,00	540,16	40,16	8,03
500	4462630,00	537,04	37,04	7,41

Tabelle 35: HPLC-Bestimmung Peakflächen und Konzentration S<sub>8</sub> in Injektionslösungen.

Charge	Peakfläche $A_1$ in $\mu\text{AU*s}$	Peakfläche $A_2$ in $\mu\text{AU*s}$	Konz. $c_1$ in $\mu\text{g/mL}$	Konz $c_2$ in $\mu\text{g/mL}$	MW Konz. $c$ in $\mu\text{g/10mL}$ unverd. Lsg	Gehalt. $c$ in $\mu\text{g/g}$ Thios-
IB1	8040820	7807470	805	789	797	767
IA2	6587890	6583500	704	704	1408	1059
IB2	6639930	6721560	708	714	711	539
IB3	5204395	5371135	599	612	605	473
IIB1	8486564	8128795	834	811	823	697
IIA2	7237020	7196289	750	748	749	599
IIB2	7797704	7433350	789	764	776	611
IIB3	6736470	7021129	715	735	725	594
IIIB1	3632610	3815010	463	480	942	754
IIIA2	2446525	2338770	344	332	338	266

Charge	Peakfläche $A_1$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Peakfläche $A_2$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Konz. $c_1$ in $\mu\text{g/mL}$	Konz. $c_2$ in $\mu\text{g/mL}$	MW Konz. $c$ in $\mu\text{g}/10\text{mL}$ unverd. Lsg..	Gehalt $c$ in $\mu\text{g/g}$ Thios.
IIIB2	6830435	6802355	722	720	721	572
IIIB3	2202195	2106740	317	306	311	257
IVA1	1464495	1406400	228	220	224	184
IVB1	318385	303890	110*)	106*)	108*)	86*)
IVA2	1342630	1432980	212	224	218	193
IVB2	732695	730720	124*)	124*)	124*)	110*)
IVA3	1335450	1322790	211	209	210	163
IVB3	937120	1072305	155*)	175*)	165*)	130*)
IXA1	67385	64850	<NG	<NG	<NG	<NG
IXB1	123705	133430	<NG	<NG	<NG	<NG
IXA2	25110	26140	<NG	<NG	<NG	<NG
IXB2	33900	33510	<NG	<NG	<NG	<NG
IXA3	67430	67330	<NG	<NG	<NG	<NG
IXB3	118795	89470	<NG	<NG	<NG	<NG
VA2	498880	503960	<NG	<NG	<NG	<NG
VB2	152240	147080	<NG	<NG	<NG	<NG
Thiosulfat.	92570	45105	<NG	<NG	<NG	<NG
Köhler 10%	65805	63540	<NG	<NG	<NG	<NG
Anfarm25%	1850640	1849010	276	276	276	94
Apotek.15%	36960	36895	<NG	<NG	<NG	<NG

\*) rechnerischer Wert angegeben, Wert < EG aber > NG

Tabelle 36: Kalibrierung Sulfat in 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung- CE-Bestimmung CE1.

Konzentration Sulfat $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Korrigierte Peakfläche $A$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}/\text{min}$
100	200,3
100	176,9
200	407,1
200	343,5
300	603,6
300	538,0
400	773,5
400	748,7
500	997,2
500	973,3
600	1111,9
600	1106,2

Tabelle 37: Wiederfindung CE1 Sulfat - Kalibrierung in Matrix.

$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in %	$f_{\text{abs.}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{proz}}$ in %	$s$ in $\mu\text{g/mL}$	$VK$ in %
200	219	109,7	19	9,7	17,0	8,5
400	424	106,0	24	6,0	17,0	4,3

Tabelle 38: Peakflächen und Konzentration Sulfat in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen, CE1.

Charge	Peakfläche $A_1$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	Peakfläche $A_2$ in $\mu\text{AU}\cdot\text{s}$	$t_{m1}$ in min	$t_{m2}$ in min	$c_{\text{Sulfat}}$ in unv. Lsg. in $\mu\text{g/mL}$
IB1	3386	3455	4,946	4,799	370
IA2	2737	2849	4,862	4,965	299
IB2	3381	3938	4,987	4,954	388
IB3	1348	1268	4,923	4,823	140
IIB1	5482	5263	4,975	4,847	577
IIA2	3549	3494	4,823	4,623	393
IIB2	4685	4517	4,886	4,796	501
IIB3	2795	2573	4,921	4,874	288
IIIB1	5600	5672	5,002	4,927	599
IIIA2	2942	2828	5,136	5,105	296
IIIB2	2447	2599	4,935	5,078	265
IIIB3	1804	1973	4,916	5,047	199
IVA1	3243	3218	4,975	5,125	337
IVB1	2559	2709	4,932	5,046	278
IVA2	1768	1913	4,872	4,996	196
IVB2	2099	1912	5,058	4,782	214
IVA3	1124	1194	5,066	4,799	123
IVB3	1207	1036	4,927	4,865	120
IXA1	2106	2251	4,911	4,874	234
IXB1	2273	2372	4,965	4,823	249
IXA2	1147	1341	4,803	5,024	132
IXB2	1390	1625	4,957	5,113	157
Kö96	1207	1391	4,888	4,951	138
Kö97	1207	1330	5,012	4,966	133
AmReag	2183	1993	5,009	4,873	222
Apobo15%	1190	1255	5,108	4,942	127

Tabelle 39: Statistik der Geraden CE1 Sulfat - Kalibrierung in Matrix.

$b$	1,8920	$SAQ_y$	1262360
$s_b$	0,0521	$SAQ_x$	350000
$r^2$	0,9925	$MW_x^2$	122500
$F$	1319,6	$MW_x$	350
$s_{\text{sreg}}$	1252866	$MW_y$	665
$a$	2,8143	$1/n$	0,0833
$s_a$	20,2835	$1/m$	0,5
$s_{xy}$	30,813	$t_{f,\alpha 0,05,\text{eins}}$	2,634
$df = n-2$	10	$t_{f,\alpha 0,05,\text{zweis}}$	2,228
$ss_{\text{resid}}$	9494,28	$1/k$	0,25
$s_{x0}$	16,29	$V_{k_{x0}}$	4,65



Tabelle 40: Statistik der Kalibriergeraden Methode DPP1 Sulfit.

Parameter	Kal_2	Kal_3	Kal_4	Kal_5	Kal_6
$b$	1,20375	1,83025	2,03100	1,72171	2,27612
$s_b$	0,01603	0,01313	0,04167	0,06404	0,14631
$a$	1,50170	2,46909	3,22504	4,22153	26,2514
$s_a$	0,13487	0,25309	0,70679	0,73440	2,28855
$r^2$	0,99611	0,99856	0,99581	0,98635	0,97189
$F$	5636,47	19421,47	2376,04	722,73	242,02
$SS_{\text{reg}}$	934,071	11269,465	6196,702	1796,356	3926,977
$SAQ_x$	644,6	3364,2	1502,35	606,0	758,0
$MW_x$	6,63	16,10	12,75	9,00	12,70
$SAQ_y$	937,716	11285,712	6222,782	1821,211	4040,560
$MW_y$	9,48	31,94	29,12	19,72	55,08
$s_{xy}$	0,40708	0,76175	1,61493	1,57655	4,02816
$s_{x_0}$	0,33818	0,4162	0,7951	0,9157	1,7697
$V_{k_{x_0}}$	5,1046	2,5851	6,2364	10,1743	13,9717
$MW_x^2$	43,89	259,21	162,56	81,00	160,44
$f = n-2$	22	28	10	10	7
$s_{\text{sresid}}$	3,6458	16,2472	26,0799	24,8552	113,5827
$1/n$	0,04167	0,033333	0,0833	0,0833	0,0833
$1/m$	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,5
$t_{f,\alpha 0,05,\text{eins}}$	1,72	1,7	1,81	1,81	1,89
$t_{f,\alpha 0,05,\text{zweis}}$	2,07	2,04	2,23	2,23	2,36
$k$	3	3	3	3	3

Tabelle 41: Wiederfindung Methode DPP1 Sulfit.

Kal_x	Konzentr. Einwaage	Konzentration Wiederfindung		Fehler absolut	Fehler prozentual	Standardabweichung des Gehalts	
	$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in %	$f_{\text{abs}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{proz}}$ in %	$s$ in $\mu\text{g/mL}$	$VK$ in %
2	1,5	1,6	104,15	0,1	4,12	0,218	13,95
2	10,0	10,2	101,75	0,2	1,75	0,212	2,09
2	5,0	4,7	94,06	-0,3	-5,94	0,209	4,44
3	5,0	5,5	110,49	0,5	10,49	0,263	4,76
3	5,0	5,2	103,82	0,2	3,82	0,264	5,08
3	15,0	14,7	98,02	-0,3	-1,98	0,252	1,72
3	30,0	32,9	109,60	2,9	9,60	0,279	0,85
4	10,0	10,0	100,02	0,0	0,02	0,516	5,16
4	20,0	20,0	100,06	0,0	0,06	0,534	2,67
5	10,0	10,4	104,19	0,4	4,02	0,681	6,54
6	10,0	8,7	87,07	-1,3	-12,93	1,882	21,62
6	10,0	11,4	114,00	1,4	14,00	1,830	16,05

Tabelle 42: Kalibrierungen von Sulfit in Natriumthiosulfat-Lösungen bestimmt mit Polarographie.

Kal2		Kal3		Kal4		Kal5		Kal6	
$c_{\text{Sulfit}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in nA	$c_{\text{Sulfit}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in nA	$c_{\text{Sulfit}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in nA	$c_{\text{Sulfit}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in nA	$c_{\text{Sulfit}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in nA
0,5	1,543	1,0	3,82	1	4,556	1	5,652	3	32,88
0,5	1,744	1,0	4,61	1	5,478	1	6,214	3	31,06
0,5	2,26	1,0	5,56	1	6,529	1	6,867	3	37,65
1,0	2,223	5,0	10,79	5	12,86	5	12,93	10	42,77
1,0	2,779	5,0	11,43	5	14,12	5	11,93	10	47,51
1,0	3,051	5,0	12,54	5	14,68	5	13,21	10	53,31
1,5	3,281	7,5	16,03	15	31,85	10	22,05	25	84,69
1,5	3,077	7,5	16,26	15	32,55	10	19,73	25	86,57
1,5	3,706	7,5	17,07	15	32,6	10	21,45	25	79,3
5,0	7,047	10,0	21,25	30	66,34	20	42,45		
5,0	7,904	10,0	21,03	30	66,25	20	36,84		
5,0	7,872	10,0	21,66	30	61,63	20	37,28		
7,5	10,73	12,5	24,45						
7,5	10,77	12,5	24,81						
7,5	10,98	12,5	25,06						
10,0	13,85	15,0	28,81						
10,0	13,77	15,0	28,95						
10,0	14,05	15,0	29,00						
12,5	15,89	20,0	39,40						
12,5	16,16	20,0	39,14						
12,5	15,79	20,0	39,87						
15,0	19,49	25,0	47,46						
15,0	19,44	25,0	47,41						
15,0	20,03	25,0	47,15						
		30,0	57,66						
		30,0	57,90						
		30,0	58,95						
		35,0	66,41						
		35,0	66,29						
		35,0	67,32						

Tabelle 43: Peakhöhen und Sulfitgehalt in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen bestimmt mit Polarographie.

	Charge		Peakhöhe – Peakstrom <i>h</i> in nA		Sulfitkonzentration Mittelwert von n = 6 <i>c</i> in µg/mL		
IB1	41,21	42,25	42,30	42,30	41,26	41,19	21,90
IA2	46,31	47,98	48,8	43,12	44,99	45,97	21,16
IB2	44,27	45,06	45,42	42,71	43,19	43,56	23,12
IB3	40,14	39,97	40,63	48,74	39,49	39,13	17,95
IIB1	10,85	12,76	14,69	8,96	10,97	12,40	4,21
IIA2	6,71	8,59	10,66	5,66	7,71	9,56	2,42
IIB2	5,95	8,03	10,34	6,13	7,83	9,56	2,34
IIB3	4,18	5,73	7,77	3,40	5,80	6,77	1,21
IIIB1	36,51	37,38	37,67	33,34	34,93	35,37	18,25
IIIA2	42,07	42,36	43,29	40,17	40,48	40,50	21,31
IIIB2	31,81	31,98	32,11	30,57	31,47	31,64	15,91
IIIB3	15,28	16,15	16,81	15,23	15,79	15,58	7,29
IVA1	2,58	3,51	4,52	2,89	2,06	3,89	0,42
IVB1	2,88	2,02	3,69	2,74	1,80	3,68	0,18
IVA2	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IVB2	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IVA3	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IVB3	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXA1	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXB1	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXA2	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXB2	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXA3	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXB3	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
Kö96 10%	39,43	39,85	40,15	39,66	39,70	39,94	20,67
Kö97 10%	35,76	36,17	36,36	36,70	36,24	36,33	18,51
AmReag	5,40	6,90	4,57	8,89	6,46	8,12	1,45
Apobol. 15%	10,52	12,49	11,81	11,02	11,53	11,98	6,43

Tabelle 44: Kalibrierungen von Thiosulfat für Natriumthiosulfat-Lösungen bestimmt mit Polarographie.

Kal_1		Kal_2	
$c_{\text{Thiosulfat}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in nA	$c_{\text{Thiosulfat}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in nA
10,00	2,588	40	11,98
10,00	2,464	40	12,03
10,00	2,68	40	12,26
20,00	5,29	50	17,24
20,00	5,16	50	17,15
20,00	5,381	50	16,92
30,00	8,058	60	23,53
30,00	7,94	60	23,47
30,00	7,994	60	23,87
40,00	11,45		
40,00	11,81		
40,00	11,79		

Tabelle 45: Statistik der Kalibriergeraden DPP2 Thiosulfat.

Parameter	Kal_1	Kal_2	Parameter	Kal_1	Kal_2
$b$	0,3004	0,5766	$s_{xy}$	0,3163	0,4354
$s_b$	0,0082	0,0177	$s_{x_0}$	1,053	0,7551
$a$	-0,6258	-11,227	$Vk_{x_0}$	4,21	1,51
$s_a$	0,2237	0,9006	$MW_x^2$	625	2500
$r^2$	0,9927	0,9934	$f = n-2$	10	7
$F$	1352,62	1052,39	$s_{\text{sresid}}$	1,000	1,327
$SS_{\text{reg}}$	135,34	199,52	$1/n$	0,0833	0,111
$SAQ_x$	1500	600	$1/m$	0,3333	0,3333
$MW_x$	25,00	50	$t_{f,\alpha 0,05,\text{eins}}$	1,81	1,90
$SAQ_y$	136,35	200,85	$t_{f,\alpha 0,05,\text{zweis}}$	2,23	2,37
$MW_y$	6,88	17,61	$k$	3	3

Tabelle 46: Wiederfindung Statistik der Kalibriergeraden DPP2 Thiosulfat.

Kal_x	Konzentr. Einwaage	Konzentration Wiederfindung		Fehler absolut	Fehler prozentual	Standardabweichung des Gehalts	
	$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in %	$f_{\text{abs.}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{proz}}$ in %	$s$ in $\mu\text{g/mL}$	$VK$ in %
1	15	15,5	103,5	0,5	3,5	0,727	4,68
1	35	35,2	100,6	0,2	0,6	0,734	2,09
1	30	30,4	101,3	0,4	1,3	0,695	2,29
1	30	29,3	97,6	-0,7	-2,4	0,690	2,36
1	40	41,0	102,4	1,0	2,4	0,807	1,97
1	30	29,7	99,1	-0,3	-0,9	0,692	2,33

Kal_x	Konzentr. Einwaage	Konzentration Wiederfindung		Fehler absolut	Fehler prozentual	Standardabweichung des Gehalts	
	$c_E$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in $\mu\text{g/mL}$	$c_W$ in %	$f_{\text{abs.}}$ in $\mu\text{g/mL}$	$f_{\text{proz}}$ in %	$s$ in $\mu\text{g/mL}$	$VK$ in %
1	30	30,2	100,7	0,2	0,7	0,694	2,30
1	30	30,5	101,5	0,5	1,5	0,696	2,28
1	20	19,1	95,3	-0,9	-4,7	0,699	3,67
1	30	29,0	96,7	-1,0	-3,3	0,688	2,37
1	30	28,7	95,7	-1,3	-4,3	0,687	2,39
2	40	39,93	99,83	-0,1	-0,2	1,075	2,69
2	40	39,74	99,35	-0,3	-0,7	1,098	2,74
2	40	39,53	98,83	-0,5	-1,2	1,123	2,81

Tabelle 47: Peakhöhen und Natriumthiosulfatgehalt in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen bestimmt mit Polarographie.

Charge	Peakhöhe – Peakstrom			Konz. <i>c</i> in µg/mL	Peakhöhe – Peakstrom			Konz. <i>c</i> in µg/mL	Konzentr. <i>c</i> in g / 100 mL
	<i>h</i> <sub>I</sub> in nA				<i>h</i> <sub>I</sub> in nA				
IB1	12,95	12,91	12,94	44,92	14,3	14,14	14,12	49,04	10,4
IA2	16,91	17,91	18,34	60,70	17,69	17,15	17,33	59,62	13,3
IB2	16,89	16,82	16,87	57,87	18,33	18,53	17,35	61,86	13,2
IB3	7,944	8,08	7,842	28,52	8,361	7,995	8,125	29,20	12,8
IIB1	7,229	7,177	7,12	25,95	7,605	7,647	7,647	27,46	11,8
IIA2	7,704	7,732	7,748	27,77	8,028	7,896	7,992	28,57	12,5
IIB2	8,029	8,056	8,042	28,81	8,096	7,973	7,885	28,62	12,7
IIB3	7,759	7,748	7,699	27,79	7,52	7,562	7,629	27,25	12,2
IIIB1	7,842	7,805	7,902	28,17	7,87	7,863	7,865	28,23	12,5
IIIA2	8,075	7,84	7,985	28,54	8,11	8,104	8,083	28,99	12,7
IIIB2	8,012	8,153	8,202	29,07	7,76	7,893	7,673	27,93	12,6
IIIB3	7,562	7,48	7,461	27,02	7,782	7,701	7,776	27,85	12,1
IVA1	7,439	7,639	7,538	27,15	7,745	7,797	7,847	27,99	12,2
IVB1	8,078	8,015	7,809	28,56	7,901	8,068	7,895	28,52	12,6
IVA2	7,006	6,867	7,058	25,36	7,161	7,099	7,107	25,77	11,3
IVB2	7,052	6,916	6,858	25,18	7,063	7,253	7,043	25,77	11,3
IVA3	8,043	8,149	8,133	29,03	8,246	8,17	8,051	29,18	12,9
IVB3	8,189	8,16	8,235	29,31	7,831	7,85	7,938	28,25	12,7
IXA1	7,74	7,648	7,661	27,62	7,915	7,968	7,854	28,38	12,4
IXB1	7,688	7,871	7,936	28,11	7,708	7,743	7,86	27,91	12,4
IXA2	7,814	7,834	7,869	28,03	7,697	7,699	7,736	27,71	12,3
IXB2	7,699	7,858	7,726	27,88	7,973	8,005	7,815	28,44	12,5
IXA3	8,475	8,426	8,224	30,12	8,475	8,426	8,224	30,12	13,3
IXA3	8,506	8,346	8,532	30,19	8,506	8,346	8,532	30,19	13,4
Kö96	7,373	7,292	7,446	26,59	7,224	7,191	7,23	26,11	11,7
Kö97	7,125	7,133	7,235	25,91	7,425	7,407	7,204	26,51	11,6
AmReag	7,385	7,287	7,363	26,51	7,29	7,16	7,08	25,95	11,6

Charge	Peakhöhe – Peakstrom $h_I$ in nA			Konz. $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Peakhöhe – Peakstrom $h_I$ in nA			Konz. $c$ in $\mu\text{g/mL}$	Konzentr. $c$ in $\text{g} / 100 \text{ mL}$
Apobol15%	7,296	7,31	7,39	26,47	7,45	7,344	7,279	26,55	17,6
Anfarm25%	7,211	7,174	7,253	26,07	7,463	7,521	7,481	26,99	29,4
Köhler 25% 96	7,365	7,222	7,234	26,27	7,051	7,009	7,019	25,46	28,6
Köhler 25% 98	6,987	6,932	6,899	25,17	7,174	7,065	6,989	25,62	28,1
VA2	7,339	7,498	7,359	26,69	7,600	7,682	7,660	27,51	30,0
VB2	7,334	7,421	7,355	26,59	7,173	7,304	7,063	25,96	29,1

Tabelle 48: Kalibrierungen von Sulfid in Natriumthiosulfat-Lösungen bestimmt mit Polarographie.

Kal2		Kal3		Kal4		Kal5		Kal6	
$c_{\text{Sulfid}}$ in $\text{ng/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in $\text{nA}$	$c_{\text{Sulfid}}$ in $\text{ng/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in $\text{nA}$	$c_{\text{Sulfid}}$ in $\text{ng/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in $\text{nA}$	$c_{\text{Sulfid}}$ in $\text{ng/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in $\text{nA}$	$c_{\text{Sulfid}}$ in $\text{ng/mL}$	$h_{\text{Peak}}$ in $\text{nA}$
100	5,689	100	4,868	50	4,401	50	3,825	50	4,391
100	5,363	100	5,342	50	4,332	50	3,675	50	4,618
100	4,792	100	4,451	50	4,474	50	4,133	50	4,518
250	10,98	250	9,73	80	5,465	80	4,994	75	6,075
250	11,16	250	9,333	80	4,794	80	4,009	75	5,872
250	11,21	250	9,256	80	5,429	80	4,461	75	5,954
500	22,29	500	21,38	100	6,565	100	5,372	100	7,242
500	22,82	500	20,89	100	6,862	100	6,204	100	6,967
500	21,65	500	21,05	100	6,509	100	5,871	100	7,198
		1000	43,06	250	12,8	250	11,78	125	8,990
		1000	45,05	250	12,57	250	12,44	125	9,080
		1000	43,15	250	12,95	250	11,24	125	9,164

Tabelle 49: Statistik der Kalibriergeraden DPP3 Sulfid-Bestimmung.

Kalibrierung Parameter	Kal_2	Kal_3	Kal_4	Kal_5	Kal_6
$b$	0,4265	0,4398	0,0424	0,0407	0,0595
$s_b$	0,0009	0,0008	0,0012	0,0018	0,0021
$a$	0,8007	-0,5424	2,1687	1,6130	1,4659
$s_a$	0,3242	0,4882	0,1667	0,2570	0,2015
$r^2$	0,9963	0,9963	0,9925	0,9808	0,9866
$F$	1860,23	2683,20	1318,39	511,00	736,05
$SS_{\text{reg}}$	445,58	2708,69	128,66	118,44	33,19
$SAQ_x$	245000	1400625	71400	71400	9375
$MW_x$	283,33	462,5	120	120	90,9
$SAQ_y$	447,25	2718,79	129,63	120,76	33,64
$MW_y$	12,884	19,797	7,263	6,500	6,67
$s_{xy}$	0,4894	1,0047	0,3124	0,4814	0,2124

Kalibrierung Parameter	Kal_2	Kal_3	Kal_4	Kal_5	Kal_6
$s_{x_0}$	11,48	22,85	7,36	11,82	3,57
$V_{k_{x_0}}$	4,05	4,94	6,13	9,85	3,93
$MW_x^2$	80277,8	213906,3	14400	14400	8264,5
$f = n-2$	7	10	10	10	10
$s_{sresid}$	1,677	10,095	0,975	2,318	2,318
$1/n$	0,1111	0,0833	0,0833	0,0833	0,0833
$1/m$	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333
$t_{f,\alpha,0,05,eins}$	1,89	1,81	1,81	1,81	1,81
$t_{f,\alpha,0,05,zweis}$	2,36	2,23	2,23	2,23	2,23
$k$	5	3	5	3	7

Tabelle 50: Wiederfindung DPP3 Sulfid-Bestimmung.

Kal_x	Konzentration der. Einwaage	Konzentration Wiederfindung		Fehler absolut	Fehler prozentual	Standardabweichung des Gehalts	
	$c_E$ in ng/mL	$c_W$ in ng/mL	$c_W$ in %	$f_{abs.}$ in µg/mL	$f_{proz}$ in %	$s$ in ng/mL	$VK$ in %
3	1000	1197,7	119,8	197,7	19,8	20,5	2,05
3	500	491,5	98,3	-8,6	-1,7	14,8	2,95
3	500	420,5	84,1	-79,5	-15,9	14,8	2,95
3	1000	1080,9	108,1	80,9	8,1	19,0	1,90
4	100	103,6	103,6	3,6	3,6	5,8	5,83
4	50	51,0	101,9	1,0	1,9	6,1	12,21
6	75	65,9	87,0	-9,1	-12,2	2,8	4,3
6	100	88,9	88,9	-11,1	-11,1	2,6	2,9

Tabelle 51: Peakhöhen und Sulfidgehalt in Natriumthiosulfat-Injektionslösungen bestimmt mit Polarographie.

Charge	Peakhöhe – Peakstrom $h_I$ in nA							Konz. $c$ in ng/mL
IB1	4,634	4,874	4,717	4,52	3,04	2,078		74
IA2	6,866	7,15	6,962	5,197	5,065	5,012		161
IB2	4,403	4,145	3,935	4,901	3,833	3,166		77
IB3	4,491	4,421	4,46	3,94	3,894	3,633		115
IIB1	5,052	5,089	4,759	4,337	4,286	4,189		127
IIA2	7,619	8,834	8,226	7,078	8,647	9,19		216
IIB2	2,727	2,408	2,844	2,481	2,628	2,554		77
IIB3	1,917	1,798	1,624	1,845	1,721	1,76		23
IIIB1	8,052	8,276	8,108	6,716	6,623	6,5993		195
IIIA2	6,649	6,44	6,303	5,128	5,072	4,887		154
IIIB2	6,3	6,07	6,028	6,000	5,755	5,689		160
IIIB3	3,703	3,437	3,749	3,413	3,647	3,438		101
IVA1	2,621	2,738	2,896	2,68	2,763	2,92		81
IVB1	2,468	2,651	2,769	2,401	2,421	2,629		80

Charge	Peakhöhe – Peakstrom $h_I$ in nA						Konz. $c$ in ng/mL
IVA2	3,102	3,384	3,687	2,988	3,01	3,064	85
IVB2	2,908	3,35	3,361	2,98	3,21	3,297	90
IVA3	2,176	2,755	2,932	2,207	2,438	2,621	84
IVB3	1,875	2,24	2,29	1,958	2,015	2,089	64
IXA1	1,621	1,572	1,818	1,599	1,578	1,674	0
IXB1	1,008	1,173	1,154	1,205	1,316	1,005	0
IXA2	1,189	1,043	1,318	1,255	1,187	1,047	0
IXB2	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXA3	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
IXB3	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
Kö96	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
Kö97	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
AmReag	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
Apobol.15%	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
VA1	3,648	3,659	3,606	3,649	3,652	3,647	36,7
VB1	4,979	4,981	4,918	4,957	4,939	4,976	58,7
Köhler 25% 96	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
Köhler 25% 98	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0
Anfarm	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	< yk	0

Tabelle 52: Volumen Iod-Maßlösung und resultierender Natriumthiosulfatgehalt der Natriumthiosulfat-Injektionslösungen bestimmt mit Biamperometrie.

Charge	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Masse Natrium- thiosulfat- Pentahydrat $m$ in mg	Konzentration $c$ in g/100mL
	$V$ in mL	$V$ in mL	$V$ in mL	$V$ in mL	$V$ in mL	$V$ in mL		
IB1	2,04	2,10	2,08	2,09	2,07	2,11	42,9	8,59
IA2	2,52	2,43	2,23	2,43	2,46	2,43	52,5	10,50
IB2	2,46	2,52	2,52	2,43	2,46	2,46	53,8	10,76
IIB1	2,14	2,06	2,10	2,09	2,11	2,23	43,8	8,75
IIA2	2,28	2,22	2,31	2,22	2,31	2,25	49,2	9,84
IIB2	2,25	2,25	2,28	2,28	2,19	2,31	49,1	9,82
IIIB1	2,17	2,27	2,26	2,21	2,18	2,23	45,8	9,16
IIIA2	2,25	2,25	2,31	2,25	2,25	2,28	49,2	9,84
IIIB2	2,28	2,19	2,25	2,25	2,16	2,25	48,5	9,69
IVA1	2,25	2,25	2,25	2,28	2,31	2,29	46,9	9,37
IVB1	2,26	2,26	2,28	2,25	2,26	2,26	46,7	9,33
IVA2	2,10	2,10	2,04	2,04	2,07	2,13	45,2	9,04
IVB2	2,07	2,24	2,10	2,07	2,10	2,07	45,8	9,16
IXA1	2,21	2,21	2,20	2,18	2,20	2,18	47,7	9,55



Charge	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Volumen Maßlös.	Masse Natrium- thiosulfat- Pentahydrat <i>m</i> in mg	Konzen- tration <i>c</i> in g/100mL
	<i>V</i> in mL	<i>V</i> in mL	<i>V</i> in mL	<i>V</i> in mL	<i>V</i> in mL	<i>V</i> in mL		
IXB1	2,18	2,23	2,24	2,21	2,23	2,19	48,1	9,62
IXA2	2,18	2,18	2,21	2,17	2,20	2,18	47,5	9,50
IXB2	2,19	2,21	2,21	2,22	2,19	2,18	47,8	9,56
Kö96-10%	2,12	2,11	2,12	2,11	2,11	2,11	45,9	9,18
VA1	2,13	2,15	2,14	2,15	2,10	2,15	44,1	22,04
VB1	2,01	2,10	2,13	2,12	2,11	2,12	43,3	21,64
Köhler96	2,83	2,61	3,12	3,14	2,85	2,60	62,1	31,05
BW	1,88	1,90	1,89	1,87	1,90	1,91	41,1	20,55

Tabelle 53: Pufferkapazitäten und pH-Werte der Natriumthiosulfat-Injektionslösungen bei potentiometrischer Titration.

Charge	pH <sub>i</sub>	pH <sub>i+1</sub>	β <sub>i</sub> in mmol/L
IB1	4,54	2,62	2,64
IA2	6,34	2,77	1,42
IB2	4,60	2,65	2,60
IB3	4,86	2,79	2,45
IIB1	6,04	3,18	1,78
IIA2	6,24	4,88	3,73
IIB2	6,15	4,58	3,23
IIB3	6,32	5,36	5,29
IIIB1	6,02	2,71	1,53
IIIA2	6,27	2,91	1,51
IIIB2	5,97	2,81	1,61
IIIB3	5,88	3,05	1,79
IVA1	7,50	6,75	6,77
IVB1	7,45	6,53	5,52
IVA2	7,42	6,79	8,06
IVB2	7,40	6,49	5,58
IVA3	7,65	6,98	7,58
IVB3	7,70	6,91	6,43
IXA1	7,82	7,20	8,19
IXB1	7,52	6,77	6,77
IXA2	7,82	7,23	8,60
IXB2	7,86	7,14	7,05
IXA3	7,91	7,37	9,40
IXB3	7,90	7,25	7,81
Kö96	8,38	7,60	6,51
Kö97	8,45	7,64	6,27

Charge	pH <sub>i</sub>	pH <sub>i+1</sub>	β <sub>i</sub> in mmol/L
AmReag	7,95	6,96	5,13
Apo-bolaget	7,46	6,50	5,29

Tabelle 54: Konzentration Sulfid und korrespondierendem Schwefelwasserstoff in den Injektionslösungen.

Charge	pH	Konzentration Sulfid <i>c</i> in ng/ml	Konzentration korrespond. Schwefelwasserstoff <i>c</i> in ng/mL
IB1	4,5	74	23018
IA2	6,3	161	721
IB2	4,6	77	187826
IB3	4,9	115	15492
IIB1	6,0	127	1128
IIA2	6,2	216	1215
IIB2	6,2	77	534
IIB3	6,3	23	107
IIIB1	6,0	195	1817
IIIA2	6,3	154	810
IIIB2	6,0	160	1674
IIIB3	5,6	101	2589
IVA1	7,5	81	25
IVB1	7,5	80	28
IVA2	7,4	85	33
IVB2	7,4	90	35
IVA3	7,7	84	18
IVB3	7,7	64	13
IXA1	7,8	0	0
IXB1	7,5	0	0
IXA2	7,8	0	0
IXB2	7,8	0	0
IXA3	7,9	0	0
IXB3	7,9	0	0
Kö96	8,3	0	0
Kö97	8,6	0	0
AmReag	7,6	0	0
Apo-bolaget	7,5	0	0

Tabelle 55: Umrechnung der gebildeten Zersetzungsprodukte als Stoffmenge Schwefel und Bezugnahme für den Anteil des Schwefels der Zersetzungsprodukte auf die Stoffmenge Schwefel des Thiosulfats der Injektionslösung.

Charge	Summe Stoffmenge Schwefel $n$ in $\mu\text{mol/mL}$	'Anteil des Thiosulfat-Schwefels $n_{\text{rel}}$ in %
IB1	7,45	0,88
IA2	7,92	0,83
IB2	7,29	0,80
IB3	4,20	0,47
IIB1	8,81	0,90
IIA2	6,94	0,69
IIB2	8,04	0,76
IIB3	5,38	0,52
IIIB1	9,63	1,10
IIIA2	4,53	0,49
IIIB2	5,35	0,62
IIIB3	3,27	0,32
IVA1	4,30	0,42
IVB1	3,30	0,33
IVA2	2,79	0,26
IVB2	2,71	0,25
IVA3	2,02	0,23
IVB3	1,82	0,17
IXA1	2,50	0,29
IXB1	2,67	0,32
IXA2	1,42	0,17
IXB2	1,67	0,18
Kö96	1,73	0,02

**Verzeichnis der Symbole und Abkürzungen**

$\alpha$	in der Statistik: Irrtumswahrscheinlichkeit
$\alpha$	Selektivitätsfaktor
$\beta$	Pufferkapazität
$\Delta a$	Breite des einseitigen Prognoseintervalls für den Ordinatenabschnitt der Kalibriergeraden (nach DIN 32645)
$\Delta G$	Änderung der Leitfähigkeit
$\Delta y_L$	Breite des einseitigen Prognoseintervalls für den Leerwert (nach DIN 32645)
$1/k$	relative Ergebnisunsicherheit zur Charakterisierung der Bestimmungsgrenze
$a$	Achsenabschnitt
$a_i$	Regressionskoeffizient (z. B. $a_0$ , $a_1$ )
$A$	Peakfläche
Abb.	Abbildung
Abs.	Absorption
ACCN	Acetonitril
ÄP	Äquivalenzpunkt
$b$	Steigung, Anstieg
$b_{0,5}$	Peakbreite in halber Peakhöhe
Bdg.	Bedingungen
BG	Bestimmungsgrenze
BL	Basislinie
BW	Blindwert
$c$	Konzentration eines Bestandteils
$c_E$	Konzentration der Einwaage
CMC	Kritische Mizellbildungskonzentration
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
CTAC	Cetyltrimethylammoniumchlorid
$c_w$	Konzentration der Wiederfindung
CZE	Kapillarzonenoelektrophorese
$D$	Diffusionskoeffizient (Ilkovič-Gleichung)
$d$	Durchmesser (bei Kapillaren)
$d$	Tage
DAD	Dioden-Array-Detektor
DEEA	2-Diethylaminoethanol
DETA	Diethylentriamin
$df$	Anzahl der Freiheitsgrade
DPP	Differentielle Puls-Polarographie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EG	Erfassungsgrenze
EGTA	Ethylenglycol-bis( $\beta$ -Aminoethylether)
$F$	Faraday-Konstante (Ilkovič-Gleichung)
$F$	Prüfgröße einer F-Verteilung
$f_{abs}$	absoluter Fehler
FIA	Fließinjektionsanalyse
$f_{proz}$	prozentualer Fehler
GKE	Gesättigte Kalomelelektrode

$H$	Berechnung des Signal-Rausch-Verhältnisses: Signalthöhe des Bestandteils
$h$	Peakhöhe, Signalthöhe
$h$	Signal-Rausch-Verhältnis: Bereich des Untergrundrauschens bei $20 \cdot H_{b0,5}$
HCHO	Formaldehyd
HGE	Hintergrundelektrolyt
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IC	Ionenchromatographie
$I_d$	Diffusionsgrenzstrom
IEF	Isoelektrische Fokussierung
IPC	Ionenpaarchromatographie
ITP	Isotachophorese
$k$	relative Ergebnisunsicherheit
$k'$	Kapazitätsfaktor
KHP	Kaliumhydrogenphthalat
Konz..	Konzentration
Lsg.	Lösung
$m$	Fließgeschwindigkeit des Quecksilbers (Ilkovič-Gleichung)
$m$	Anzahl der Wiederholungsmessungen
MeOH	Methanol
MetHb	Methämoglobin
MW	Mittelwert
$n$	Zahl der umgesetzten Äquivalente (Ilkovič-Gleichung)
$n$	Anzahl der Messwerte
n.b.	nicht bestimmt
NTCS	Naphthalintetracarbonsäure
NTSS	Naphthalintetrasulfonsäure
NWG	Nachweisgrenze
ODS	Octadecylsilan
PHBA	p-Hydroxybenzoesäure
PHS	Phthalsäure
PMA	Pyromellitsäure
ppb	part per billion
ppm	parts per million
q.s.	„quantum sates“ soviel als nötig
$r$	Pearson'scher Korrelationskoeffizient
$r^2$	Bestimmtheitsmaß
RP-HPLC	Reversed-phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
$s$	Standardabweichung
S/N	Signal-Rausch-Verhältnis
$s_a$	Standardabweichung des Achsenabschnitts
SAQ	Summe der Abweichungsquadrate
sdv	Standardfehler des Messwertes
$S_s$	Symmetriefaktor
$ss_{reg}$	Regressionsquadratsumme
$ss_{resid}$	Residualquadratsumme
$s_{x0}$	Verfahrensstandardabweichung

$s_{xy}$	Reststandardabweichung
$t$	Tropfzeit (Ilkovič-Gleichung)
$t_{f,\alpha\ 0,05,\text{eins/zweis}}$	Prüfgröße einer t-Verteilung für $\alpha = 5\%$ (P 0,95) und f Freiheitsgrade
Tab.	Tabelle
TBAOH	Tetrabutylammoniumhydroxid
TEMED	N, N, N', N' Tetraethyldiamin
THF	Tetrahydrofuran
$t_m$	Migrationszeit bei der Kapillarelektrophorese
$t_R$	Retentionszeit
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
TTAB	Tetrabutyltrimethylammoniumbromid
unverd.	unverdünnt
UV	ultravioletter Bereich des elektromagnetischen Spektrums
$V$	Volumen
Vis	sichtbarer Bereich des elektromagnetischen Spektrums
VK	Variationskoeffizient (relative Standardabweichung)
VK <sub>xo</sub>	relative Verfahrensstandardabweichung
WFI	Wasser für Injektionszwecke hier: Destilliertes Wasser
$x_{BG}$	Konzentration der Bestimmungsgrenze
$x_{EG}$	Konzentration der Erfassungsgrenze
$x_{NG}$	Konzentration der Nachweisgrenze
$y_k$	kritischer Messwert
$y_L$	Leerwert / Blindwert bei Kalibrierung

**Literaturverzeichnis**

- 1 Hündorf, H.-P.; Rupp, P. in: Hrsg.: Domres, B.; Enke, K.; Lipp, R.; Hündorf, H.-P.; Rupp, P.; Schmidt, U.; Trübenbach, T.: Lehrbuch für präklinische Notfallmedizin, Band 2: Allgemeine und spezielle Notfallmedizin Schwerpunkt Innere Medizin, Verlagsgesellschaft Stumpf & Kossendey, Edewecht, Wien 1997, S. 272-274.
- 2 Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Schäfer-Korting, M.: Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 8. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 2001, S. 962-1019.
- 3 Dr. Franz Köhler Chemie GmbH: Gebrauchsinformation Natriumthiosulfat 10 % und 25 % Antidotlösung, Stand: 07/94, 07/95, 01/97, Alsbach-Hähnlein 1998.
- 4 Heintz, B.; Bock, T.A.; Kierdorf, H.; Sieberth, H.G.: Dtsch. med. Wschr. 115 (1990) 1100-1103.
- 5 Hrsg.: Marquardt, H.; Schäfer, S.G.: Lehrbuch der Toxikologie, BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich 1994, S. 555-563, 794-799.
- 6 Hrsg.: Sefrin, P.: Notfalltherapie. Erstversorgung im Rettungsdienst, 6. Auflage, Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien 1998, S. 700-703.
- 7 Hrsg.: Estler, C.-J.; Ammon, H.P.T.: Pharmakologie und Toxikologie für Studierende der Medizin und Naturwissenschaftler sowie Ärzte und Apotheker, 3. Auflage, Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, New York 1992, S. 588-590.
- 8 Hrsg.: Ludewig, R.; Lohs, K.: Vergiftungen, 8. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena 1991, S. 115-121, 126-128, 260-262.
- 9 Cisplatin V-3.10.18, Hrsg.: Kuemmerle, H.-P.; Hitzenberger, G.; Spitzzy, K.H.: Klinische Pharmakologie, 4. Auflage, ecomed, Landsberg 19. Erg. Lfg. 2/89, S. 1-3.
- 10 Somani, S.M.; Babu, S.R.: Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. 27 (9) (1989) 419-35.

- 11 Hrsg.: Parfitt, E.: Martindale, 32. Edition, The Pharmaceutical Press, London 1999, S. 996.
- 12 Chiang, C.H.; Yeh, M.K.; Hsieh, C.H.: *Zhoughua yaoxue zazhi* 32 (3) (1990) 257-263.
- 13 Bosse, I.: Dissertation: Untersuchungen zur Stabilität von Thiosulfat-Infusionslösungen unter besonderer Berücksichtigung des Primärpackmittels Glas, Julius-Maximilians-Universität Würzburg 1991.
- 14 Hrsg.: Gmelin-Institut für Anorganische Chemie und Grenzgebiete in der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften: Meyer, R.J.; Pietsch, E.H.E.: Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie. Schwefel. Teil B, System-Nummer 9, Lieferung 2, 8. Auflage, Verlag Chemie, GmbH, Weinheim / Bergstrasse 1960, S. 373-379, 476-479, 504-505, 538-543, 853-897, 912-921, 969- 990, 1004-1028.
- 15 Engelhardt, H.; Beck, W.; Schmitt, Th.: Kapillarelektrophorese. Methoden und Möglichkeiten, Fr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig, Wiesbaden 1994, S. 7-33, 39-44, 183-185.
- 16 Hrsg.: Unger, K.K.; Weber, E.: Handbuch der HPLC Teil 1, 2. Auflage, GIT Verlag, Darmstadt 1995, S. 91-92.
- 17 Szekeeres, L.: *Talanta* 21 (1974) 1-44.
- 18 Hrsg.: Thoms, H.: Handbuch der praktischen und wissenschaftlichen Pharmazie, Band IV, Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien 1924, S. 1507-1508.
- 19 Piechulla, E.: Natrium thiosulfuricum, Hrsg.: Jung, F.; Kny, L.; Poethke, W.; Pohloudek-Fabini, R.; Richer, J.: Kommentar zum Deutschen Arzneibuch, 7. Ausgabe, II. Lieferung, Akademie-Verlag, Berlin 1970.
- 20 Wirth, W. und Mitarbeiter: Hrsg.: Gloxhuber, C.: Toxikologie, 5. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart 1994, S. 64.
- 21 Hrsg.: von Bruchhausen, F.; Ebel, S.; Hackenthal, E.; Dannhardt, G.; Frahm, A.W.; Holzgrabe, U.: Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Band 8, 5. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1993, S. 1121-1123.
- 22 Weger, N. in: Hrsg.: Rebentisch, E.; unter Mitwirkung von Dinkloh, H.: Wehrmedizin. Ein kurzes Handbuch mit Beiträgen zur Katastrophenmedizin, Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1980, S. 261-275.



- 23 Biersack, R.: Dissertation: Klinischer Verlauf und Therapieerfahrungen bei zwölf S-Lostvergifteten aus dem Golfkrieg in den Jahren 1984 und 1985 im Raum München, Technische Universität München, Fakultät für Medizin 1990, S. 95-97, 121.
- 24 Goel, R.; Cleary, S.M.; Horton, C.; Kirmeni, S.; Abramson, I.; Kelly, C.; Howell, S.B.: *J. Natl. Cancer Inst.* 8 (20) (1989) 1552-1560.
- 25 Treskes, M.; Nijtmans, L.G.J.; Fichtinger-Schepman, A.M.J.; Van Der Vijgh, W.J.F.: *Biochem. Pharmacol.* 43 (5) (1992) 1013-1019.
- 26 Leeuwenkamp, O.R.; Neijt, J.P.; Van Der Vijgh, W.J.F.; Pinedo, H.M.: *Eur. J. Cancer* 27 (10) (1991) 1243-1247.
- 27 Bukowski, R.M.: *Eur. J. Cancer* 32 (4) (1996) 52-54.
- 28 Willemse, P.H.B.; Sleijfer, D.Th.; de Vries, E.G.E.; Boonstra, H.; Bonma, J.; Mulder, N.H.: *Eur. J. Cancer* 28 (2/3) (1992) 479-481.
- 29 Guastalla, J.P.; Vermorken, J.B.; Wils, J.A.; George, M.; Scotto, V.; Nooij, M.; Ten Bokkel Huinnink, W.W.; Dalesio, O.; Renard, J.: *Eur. J. Cancer* 30 (1) (1994) 45-49.
- 30 De Jong, R.S.; Willemse, P.H.B.; Boonstra, H.; de Vries, E.G.E.; Van der Graaf, W.T.A.; Sleijfer, Th.D.; Van der Zee, A.G.J.; Mulder, N.H.: *Eur. J. Cancer* 31 (5) (1995) 709-713.
- 31 Van Rijswijk, P.E.N.; Hoekman, K.; Burger, C.W.; Verheijen, R.H.M.; Vermorken, J.B.: *Ann. Oncol.* 8 (12) (1997) 1235-1241.
- 32 Uchiyama, N.; Kobayashi, H.; Nakajo, M.; Shinohara, S.: *Acta Oncol.* 27 (1) (1988) 57-61.
- 33 Onohara, S.; Kobayashi, H.; Hoh, Y.; Shinohara, S.: *Acta Radiol.* 29 (2) (1988) 197-202.
- 34 Crabbe, S.J. (Ed.); Weiss, B.M.: *P & T* 6 (1991) 576, 581.
- 35 Cole, P.V.; Vesey, C.J.: *Br. J. Anaesth.* 5 (1987) 531-535.
- 36 Hrsg.: Falbe, J.; Regitz, M.: *Römpf Lexikon Chemie*, 10. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1996, S. 547.
- 37 Agroyannis, B.J.; Kotsikos, D.K.; Tzanatos, H.A.; Konstadinidon, I.K.: *Scand. J. Urol. Nephrol.* 28 (1) (1994) 107-108.
- 38 Yatzidis, H.: *Clin. Nephrol.* 23 (2) (1985) 63-67.

- 39 Verordnung über den Betrieb von Apotheken (Apothekenbetriebsordnung-ApBetrO), Hrsg.: Gebler, H.: Wilson-Blanke Apotheken- und Arzneimittelrecht, 35. (131.) Ergänzungslieferung, Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH, Eschborn 1998, S. 19.
- 40 a) Dinatriumthiosulfat, b) Natriumdisulfit, Hrsg.: Arzneibüro der ABDA: Pharmazeutische Stoffliste, Band a) Dig-Dz, b) Mf-Ne, 12. Auflage, Werbe- und Vertriebsgesellschaft Deutscher Apotheker m.b.H., Eschborn 2000, S. a) 145-146, b) 85.
- 41 Natriumthiosulfat, Deutsches Arzneibuch. Amtliche Ausgabe, 10. Ausgabe 1991 mit 2. Nachtrag 1993, Deutscher Apotheker Verlag, Govi-Verlag GmbH, Stuttgart, Eschborn 1991.
- 42 Natriumthiosulfat, Europäisches Arzneibuch. Amtliche Deutsche Ausgabe, 3. Ausgabe Nachtrag 2001, Deutscher Apotheker Verlag, Govi-Verlag-Pharmazeutischer Verlag GmbH, Stuttgart, Eschborn 1997, S. 1365.
- 43 Sodium Thiosulfate, Sodium Thiosulfate Injection, The United States Pharmacopeia. The National Formulary, USP 24, NF19, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, MD 2000, S. 1543-1544.
- 44 Hrsg.: Bartolomé, E.; Biekert, E.; Hellmann, H.; Lea, H.; Weigert, W.M.; Weise, E.: Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Band 21, 4. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach / Florida, Basel 1972-1984, S. 102-178.
- 45 Natrii Thiosulfas, Hrsg.: Eidgenössisches Departement des Inneren: Pharmacopoea Helvetica, Ph. Helv. VII, Eidgenössische Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1996.
- 46 Hrsg.: Budavari, S.; O'Neil, M.J.; Smith, A.; Heckelmann, P.E.: The Merck Index, 11. Edition, Merck & Co., Inc., Rahway, N.Y. 1989, S. 8650.
- 47 Giegling, D.: Natriumthiosulfat, Hrsg.: Hartke, K.; Hartke, K.; Mutschler, E.; Rücker, G.; Wichtl, M.: Arzneibuchkommentar. Kommentar zum DAB 10 Grundfassung 1991, 4. Lieferung, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH., Govi-Verlag-Pharmazeutischer Verlag GmbH, Stuttgart, Eschborn 1994.
- 48 Roesky, H.W.; Glemser, O.; Hopf, A.: Chem. Ber. 101 (1968) 1215-1222.
- 49 Vaubel, W.: Ber. 22 (1889) 1686-1694.
- 50 Colefax, A.: J. Chem. Soc. 61 (1892) 176-199.

- 51 Foerster, F.; Center, K.: *Z. anorg. Chem.* *157* (1926) 45-82.
- 52 Remy, H.: *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, Band I, 13. Auflage, Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig 1970, S. 852-899.
- 53 Schulek, E.: *Z. anal. Chem.* *68* (1926) 387-397.
- 54 Bassett, H.; Durrant, R.G.: *J. Chem. Soc.* *1927* (1927) 1401-1468.
- 55 Lunge, G.: *Chem. Ind.* *6* (1883) 298-317.
- 56 Cherbuliez, E.; Herzenstein, A.: *Helv. chim. Acta* *19* (1936) 801-806.
- 57 Salzer, Th.: *Ber.* *19* (1886) 1696-1697.
- 58 Jander, G.; Blasius, E.: *Lehrbuch der analytischen und präparativen anorganischen Chemie*, 14. Auflage, S. Hirzel Verlag, Stuttgart 1995, S. 295-355.
- 59 Westermann, K.; Näser, K.-H.; Brandes, G.: *Anorganische Chemie*, 14. Auflage, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig 1988, S. 313-331.
- 60 Hermann, P.: *Allgemeine und Anorganische Chemie*, 5. Auflage, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1988, S. 279-283.
- 61 Hollemann, A.F.; Wiberg, E.: *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 91.-100. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, New York 1985, S. 481-523.
- 62 Sodium thiosulfate, Sodium thiosulfate injection, The United States Pharmacopeia. The National Formulary, USP 23, NF 18, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, MD 1995, S. 1433.
- 63 Apotekbolaget: Gebrauchsinformation Natrium tiosulfat 150 mg/ml, Umeå 1998.
- 64 American Reagent Laboratories, Inc.: Gebrauchsinformation Sodium Thiosulfate Injection, Shirley, N.Y. 1998.
- 65 Connors, K.A.; Amidon, G.L.; Stella, V.J.: *Chemical Stability of Pharmaceuticals*, 2. Auflage, John Wiley & Sohns, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore 1986, S. 82-113.
- 66 Abschlussbericht E/B41G/M0264/M5912, Bundeswehrkrankenhaus Osnabrück.
- 67 Voigt, R.: *Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf*, 8. Auflage, Ullstein Mosby, Berlin, Wiesbaden 1995, S. 478-479, 590-591.

- 68 Hrsg.: Bauer, K.H.; Frömming, K.-H.; Führer, C.: Pharmazeutische Technologie, 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1991, S. 424-426.
- 69 Surmann, J.P.; Bosse, I.: Pharm. Ind. *54* (1) (1992) 66-68.
- 70 Baucke, F.G.K.: Pharm. Ind. *54* (10) (1992) 886-889.
- 71 Steudel, R.; Göbel, T.; Holdt, G.: Z. Naturforsch. *43b* (1988) 203-218.
- 72 Popov, I.G.; Vlodavets, V.V.; Chizhov, S.V.; Siniak, I.E.; Shikiva, M.I.: Kosm. Biol. Aviakosm. Med. *20* (5) (1986) 75-78.
- 73 Inorganic Microbial Sulfur Metabolism, Hrsg.: Peck, H.D.; LeGall, J.: Methods in Enzymology, Band 234, Academic Press, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto 1994, S. 475-511.
- 74 ABDA-Datenbank (ABDATA): CDinfo-Drugs. International Drug Information System, Eschborn 4/98.
- 75 Schott Rohrglas GmbH: Technische Daten Fiolex<sup>®</sup> / Illax<sup>®</sup>, Bayreuth Juni 1999.
- 76 Hrsg.: Deutsche Chemische Gesellschaft: Meyer, R.J.; Pietsch, E.; Peters, F.: Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie. Natrium, System-Nr. 21, 8. Auflage, Verlag Chemie GmbH, Berlin 1928, S. 602-633.
- 77 Hrsg.: Deutsche Chemische Gesellschaft: Pietsch, E.: Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie. Kalium, System-Nr. 22, 8. Auflage, Verlag Chemie GmbH, Berlin 1938, S. 769.
- 78 Raschig, F.: Über Herstellung und Eigenschaften der Polythionsäuren, Schwefel- und Stickstoffstudien, Verlag Chemie GmbH, Leipzig, Berlin 1924, S. 273-304.
- 79 Hrsg.: Gmelin Institut für Anorganische Chemie: Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie. Schwefel. Teil A, System-Nr. 9, Lieferung 2, 8. Auflage, Verlag Chemie GmbH, Weinheim / Bergstrasse 1953, S. 486-501.
- 80 Roesky, H.W.; Glemser, O.; Hoff, A.: Chem. Ber. *101* (1968) 1215-1222.
- 81 Stamm, H.; Goehring, M.: Anorg. Chem. *58* (1945) 52-60.
- 82 Foerster, F.; Hornig, H.: Z. anorg. Chem. *125* (1922) 86-146.
- 83 Riesenfeld, E.H.; Grünthal, E.: Medd. Nobelinst. *6* (9) (1924) 1-36.
- 84 Kurtenacker, A.; Czernotzky, A.: Z. anorg. Chem. *175* (1928) 231-250.
- 85 Goehring, M.: Fortschr. chem. Forsch. *2* (1951/53) 444-483.

- 86 Weitz, E.; Spohn, K.: Chem. Ber. 89 (1956) 2332-2345.
- 87 Weitz, E.; Becker, F.; Gieles, K.; Alt, B.: Chem. Ber. 89 (1956) 2353-2364.
- 88 Weitz, E.; Gieles, K.; Singer, J.; Alt, B.: Chem. Ber. 89 (1956) 2365-2373.
- 89 Latimer, G.W.; Stetco, E.I.: Talanta 14 (1967) 984-988.
- 90 Bowers, J.W.; Fuller, M.J.A.; Packer, J.E.: Chem. Ind. 11 (1966) 65.
- 91 Steudel, R.; Holdt, G.; Nagorka, R.: Z. Naturforsch. 41b (1986) 1519-1522.
- 92 Thatcher, C.J.: Z. phys. Chem. 47 (1904) 641-720.
- 93 Jander, G.; Blasius, E.: Einführung in das anorganisch chemische Praktikum, 13. Auflage, S. Hitzel Verlag, Stuttgart 1990, S. 117-126.
- 94 Hrsg.: Fresenius, W.: Handbuch der analytischen Chemie Teil II, Band VI, Springer Verlag, Berlin 1978.
- 95 Ottawa, T.; Hanaki, A.: Biochem. Int. 20 (1990) 649-658.
- 96 Raschig, F.: Z. angew. Chem. 33 (1920) 260-262.
- 97 Goehing, M.; Feldmann, U.: Z. anorg. Chem. 257 (1948) 223-226.
- 98 Kurtenacker, A.; Ivanow, I.A.: Z. anorg. Chem. 185 (1930) 337-359.
- 99 Foerster, F.; Vogel, R.: Z. anorg. Chem. 155 (1926) 161-191.
- 100 Steudel, R.; Göbel, Th.; Holdt, G.: Z. Naturforsch. 44b (1989) 526-530.
- 101 Pollard, F.H.; Jones, D.J.; Nickless, G.: J. Chromatogr. 15 (1964) 393-406.
- 102 Colefax, A.: J. Chem. Soc. 61 (1892) 199-204.
- 103 Feigl: Ber. 56 (1923) 2086.
- 104 Gjerde, D.T.; Fritz, J.S.: Ion Chromatography, 2. Auflage, Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg, Basel, New York 1987.
- 105 Cole, D.E.C.; Evrovski, J.; Pirone, R.: J. Chromatogr. 672 (1995) 149-154.
- 106 Pizzoferrato, L.; DiLullo, G.; Quattrucci, E.: Food Chemistry 63 (1998) 275-279.
- 107 McCormick, M.J.; Dixon, L.M.: J. Chromatogr. 322 (1985) 478-483.
- 108 Trujillo, T.J.; Miller, M.M.; Skogerboe, R.K.; Taylor, H.E.; Grant, C.L.: Anal. Chem. 53 (12) (1981) 1944-1946.
- 109 Poulson, R.E.; Borg, H.M.: J. Chrom. Sci. 25 (1987) 409-414.

- 110 Moses, C.O.; Nordstrom, D.K.: *Talanta* 31 (5) (1984) 331-339.
- 111 Stapf, H.: *Fotografische Praxis*, Fachbuchverlag, Leipzig 1960, S. 342.
- 112 Sundén, T.; Lindgren, M.; Cedergren, A.: *Anal. Chem.* 55 (1983) 2-4.
- 113 Hansen, L.D.; Richter, B.E.; Rollins, D.K.; Lamb, J.D.; Eatough, D.J.: *Anal. Chem.* 51 (6) (1979) 633-637.
- 114 Weiß, J.; Göbl, M.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 320 (1985) 439-444.
- 115 Weidenauer, M.; Hoffmann, P.; Lieser, K.H.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 331 (1988) 372-375.
- 116 Kokkonen, P.; Hyvärinen, H.: *Anal. Chim. Acta* 207 (1988) 301-304.
- 117 Strege, M.A.; Lagu, A.L.: *LC-GC* 11 (12) (1993) 874-878.
- 118 Jenke, D.R.; Pagenkopf, G.K.: *Anal. Chem.* 56 (1984) 85-88.
- 119 Small, H.; Miller, T.E.: *Anal. Chem.* 54 (1982) 462-469.
- 120 Wolkoff, A.W.; Larose, R.H.: *Anal. Chem.* 47 (1975) 1003-1008.
- 121 Wolkoff, A.W.; Larose, R.H.: *J. Chrom. Sci.* 14 (1976) 353-355.
- 122 Takana, B.; McKibben, M.A.; Barnes, H.L.: *Anal. Chem.* 56 (1984) 1594-1600.
- 123 Story, J.N.: *J. Chrom. Sci.* 21 (1983) 272-277.
- 124 Stanbury, D.: Hrsg.: *Gamma Analysen Technik GmbH: Applikation Nr. 9. The Wescan Ion Analyzer*, Bremerhaven 1985, S. 6.
- 125 *Gamma Analysen Technik GmbH: GAT Applikationschromatogramme. Ion Analysis Applications Nr. 52 und Nr. 52*, Bremerhaven.
- 126 *Inter Action Chromatography, Inc.: Polymeric Columns for HPLC. Catalog No. 12*, San Jose, CA, Bad Homburg 1994, S. 29-33.
- 127 Merck KGaA: *Chrom Circle. HPLC Application Note 950024ican1*, Version 1.3, Darmstadt 10.02.1998.
- 128 *Gamma Analysen Technik GmbH: GAT Applikation Ionenchromatographische Bestimmung anorganischer Ionen G30902, G42804a, 407041A, EU8500467, 8600479*, Berlin, Bremerhaven.
- 129 Metrohm AG: *Application Bulletin Nr. 187/2d. IC6-10 Ionenchromatographische Analyse von Entwickler- und Fixierbädern sowie Abwässern in der Fotoindustrie*, Herisau, S. 1-2.

- 130 Hassan, S.M.: *Chemosphere* 29 (12) (1994) 2555-2569.
- 131 Lindgren, M.; Cedergren, A.; Lindberg, J.: *Anal. Chim. Acta* 141 (1982) 279-286.
- 132 Michigami, Y.; Ueda, K.: *J. Chromatogr.* 663 (1980) 255-258.
- 133 Melander, W.R.; Kalghatgi, K.; Horváth, C.: *J. Chromatogr.* 204 (1980) 201-209.
- 134 Bidlingmeyer, B.A.; Deming, S.N.; Price, W.P.; Sachok, B.; Petrusek, M.: *J. Chromatogr.* 186 (1979) 419-434.
- 135 Rabin, S.B.; Stanbury, D.M.: *Anal. Chem.* 57 (1985) 1130-1132.
- 136 Steudel, R.; Holdt, G.: *J. Chromatogr.* 361 (1986) 379-384.
- 137 Steudel, R.; Holdt, G.; Göbel, Th.; Hazeu, W.: *Angew. Chem.* 99 (2) (1987) 143-146.
- 138 Steudel, R.; Holdt, G.; Göbel, Th.: *J. Chromatogr.* 475 (1989) 442-446.
- 139 Steudel, R.; Mäusle, H.-J.; Rosenbauer, D.; Möckel, H.; Freyholdt, T.: *Angew. Chem.* 93 (4) (1981) 402-404.
- 140 Strauss, R.; Steudel, R.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 326 (1987) 543-546.
- 141 Salomon, D.R.; Romano, J.: *J. Chromatogr.* 602 (1992) 219-225.
- 142 Maurer, W.; Schubert, B.A.; Hohaus, E.; Dengel, H.S.; Riepe, W.: *Hewlett Packard Peak 2* (1998) 2-4.
- 143 Romani, J.P.; Krol, J.: *J. Chromatogr.* 640 (1993) 403-412.
- 144 Göttlein, A.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 349 (1994) 777-778.
- 145 Buchberger, W.: *GIT* 38 (6) (1994) 635-636.
- 146 Millipore Corp., Bedford: *Method for Separating Ionic Species Using Capillary Electrophoresis*. U.S. Patent 5366601 (1994).
- 147 Rhemrev-Boom, M.M.: *J. Chromatogr. A* 680 (1994) 675-684.
- 148 Nair, J.B.; Izzo, C.G.: *J. Chromatogr.* 640 (1993) 445-461.
- 149 Jones, W.R.: *J. Chromatogr.* 604 (1993) 387-395.
- 150 Ma, Y.; Zhang, R.: *J. Chromatogr.* 625 (1992) 341-348.
- 151 Shamsi, S.A.; Danielson, N.D.: *Anal. Chem.* 66 (1994) 3757-3764.
- 152 Stathaldis, C.; Cassidy, R.M.: *Anal. Chem.* 66 (1994) 2110-2112.

- 153 Jimidar, M.: Prediction of the Migration Behavior of Anions in Capillary Ion in the Presence of Micelles. Poster-Reprint [Poster präsentiert: HPCE '95 in Würzburg], 1995.
- 154 Schomburg, G.; Belder, D.; Gilges, M.; Motsch, S.: *J. Cap. Elec. 1 (3)* (1994) 219-229.
- 155 Harrold, M.P.; Wojtusik, M.J.; Riviello, J.; Henson, P.: *J. Chromatogr. 640* (1993) 463-471.
- 156 Thermo Separation Products Inc., Fremont: Controlled Temperature Anion Separation by Capillary Electrophoresis. U.S. Patent 5385654 (1995).
- 157 Stahl, R.: *J. Chromatogr. A 686* (1994) 143-148.
- 158 Geyer, M.; Jandik, P.; Kelly, L.: Evaluation of Procedure for Achieving Constancy of Migration Time in Capillary Electrophoresis. Poster-Reprint [Poster präsentiert: HPCE '95 in Würzburg], 1995.
- 159 Debus, G.: *GIT 39 (1)* (1995) 38-44.
- 160 Jones, W.R.; Jandik, P.: *J. Chromatogr. 546* (1991) 431-442.
- 161 Lamb, J.D.; Edwards, B.R.; Smith, R.G.; Garrick, R.: *Talanta 42 (1)* (1995) 109-117.
- 162 Thermo Separation Products GmbH: Product Applications and Informations. MG 93-1-3 Anions with PMA Buffer System, Darmstadt 1994.
- 163 Cikalo, M.G.; Goodall, D.M.; Sanchez-Felix, M.; Blagbrough, T.; Reilly, J.: Investigations of Indirect Detection Conditions for Capillary Zone Electrophoresis. Poster-Reprint [Poster präsentiert: HPCE '95 in Würzburg], 1995.
- 164 Bächmann, K.; Bazzanella, A.; Lochmann, H.; Mainka, A.: *TSP Analytical Visions 5* (1996) 2-3.
- 165 Doble, P.; Macka, M.; Andersson, P.; Haddad, P.R.: *Anal. Commun. 34* (1997) 351-353.
- 166 Kaneta, T.; Tanaka, S.; Taga, M.; Yoshida, H.: *Anal. Chem. 64* (1992) 798-801.
- 167 Huang, M.; Mitchell, D.; Bigelow, M.: Stable, Bonded, Positively Charged Capillary Electrophoresis Columns. Poster-Reprint [Poster präsentiert: HPCE '95 in Würzburg], 1995.
- 168 Supelco Inc.: Supelco Application Bulletin 888. T195888, Bellefonte 1995.



- 169 Supelco, Inc.: Abstract of Supelco Catalog. CElect(TM) Capillary Electrophoresis Columns T494120A, Bellefonte 1995.
- 170 Cunāt-Walter, M.A.; Shoikhet, K.; Engelhardt H.: GIT 39 (10) (1995) 914-921.
- 171 Altepeter, B.; Bondoux, G.: Determination of Difficult Samples Using Capillary Electrophoresis. Poster-Reprint [Poster präsentiert: HPCE '95 in Würzburg], 1995.
- 172 Janini, G.M.; Muschik, G.M.; Issaq, H.J.: J. Cap. Elec. 1 (2) (1994) 116-120.
- 173 Harakuwe, A.H.; Haddad, P.R.: Anal. Communic. 33 (1996) 103-105.
- 174 Weiss, J.; Hauffe, D.: GIT 38 (2) (1994) 57-60.
- 175 Li, S.F.Y.: Journal of Chromatography Library. Capillary Electrophoresis, 2. Auflage, Elsevier, Amsterdam, London, New York, Tokyo 1994.
- 176 Eisenbeiß, F.: ItaChromEA109. Produktinformation Merck KG, Darmstadt 1996, S. 1-17.
- 177 Yagi, T.; Kojima, K.; Haruki, T.: J. Chromatogr. 292 (1984) 273-280.
- 178 Meißner, T.; Eisenbeiß, F.; Jastorff, B.: Neue Anwendungen der Isotachophorese zur anionischen Spurenanalyse in Überschusskomponenten in der Produktüberwachung [Vortrag und Unterlagen präsentiert: InCom '98 in Düsseldorf], 1998.
- 179 Hrsg.: Bartolomé, E.; Biekert, E.; Hellmann, H.; Lea, H.; Weigert, W.M.; Weise, E.: Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Band 5, 4. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach / Florida, Basel 1972-1984, S. 668-679.
- 180 Krjukowa, T.A.; Sinjakowa, S.I.; Arefjewa, T.W.: Polarographische Analyse, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig 1996, S. 385-391, 585-590.
- 181 Davison, W.: Anal. Proceed. 28 (1991) 59-61.
- 182 Hemmingsen, T.: Electrochim. Acta 37 (15) (1992) a) 2775-2784 b) 2785-2790.
- 183 Novotný, L.; Krista, J.: Electroanalysis 10 (14) (1998) 965-968.
- 184 Metrohm AG: Application Bulletin 99/1d. Polarographische Bestimmung von Sulfid, Sulfit und Thiosulfat in Gemischen, Herisau, S. 1-2.
- 185 Metrohm AG: Application Bulletin 199/2d. Polarographische Bestimmung von Sulfid und Sulfit, Herisau, S. 1-5.

- 186 Metrohm AG: Application Bulletin 111/1d. Polarographische Bestimmung von anorganischen Ionen, Herisau, S. 1-4.
- 187 Kaden, H.; Schönfeld, G.: GIT 39 (4) (1995) 301-304.
- 188 Schmukl, A.; Foge, D.: Labo 4 (1998) 58-62.
- 189 Metrohm AG: Application Bulletin 182/1d. Potentiometrische Analyse von Fotobädern, Herisau, S. 1-6.
- 190 Metrohm AG: Application Bulletin 140/2d. Instrumentelle Sulfatbestimmung, Herisau, S. 1-10.
- 191 Koh, T.: Anal. Sci. 6 (1990) 3-14.
- 192 Koh, T.; Miura, Y.; Ishimoti, M.; Yamamuro, N.: Anal. Sci. 5 (1989) 79-84.
- 193 Cosano, J.S.; Luque de Castro, M.D.; Valcárel, M. : Anal. Chim. Acta 302 (1995) 269-274.
- 194 Holman, D.A.; Thomson, A.W.; Bennett, D.W.; Otros, J.D.: Anal. Chem. 66 (1994) 1378-1384.
- 195 Strauss, R.: Dissertation: Anwendungen der Hochdruckflüssigkeitschromatographie in der analytischen und präparativen Schwefelchemie, Technische Universität Berlin 1987.
- 196 Steudel, R.; Holz, B.: Z. Naturforsch. 43b (1988) 581-589.

---

## Lebenslauf

### Persönliche Angaben:

Name, Vorname:	Miethe, Gundel
geb.:	11. Mai 1970, Guben
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Anschrift:	Ahrenshooper Str. 41, 13051 Berlin

### Schulische Ausbildung:

01.09.76 - 31.08.86	Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule „Friedensoberschule“ Guben,
01.09.86 - 31.08.88	Erweiterte Oberschule „Erich Weinert“ Guben, Abitur

### Berufsausbildung / Studium:

01.09.88 - 31.08.89	Vorpraktikum „Pharmazeutisches Zentrum Forst / Guben“
01.09.89 - 31.08.93	Pharmaziestudium an der Humboldt-Universität zu Berlin
01.10.93 - 30.04.94	Pharmaziepraktikant, Apotheke „Am Fennpfuhl“, Berlin
07.11.94	Abschluss 3. Staatsexamen,
06.12.94	Approbation als Apothekerin
01.05.94 - 30.04.99	Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Humboldt-Universität Berlin, Institut für Pharmazie, Arbeitsgruppe Pharmazeutische Analytik,
01.02.95 - 30.04.99	Tätigkeit als Apothekerin in der „Greifswalder Apotheke“, Berlin
01.05.99 - 31.07.99	Honorartätigkeit an der Humboldt-Universität Berlin, Fachbereich Pharmazie, Betreuung des Praktikums „Instrumentelle Pharmazeutische Analytik“
01.11.99 - 31.10.01	Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen (SET), davon 5 Monate Kooperationstätigkeit bei Roche Diagnostics GmbH, Penzberg
seit 01.11.01	Referent für Prozessbewertung, Schering AG Berlin, Abteilung GMP/Prozesskontrolle/Dokumentation

---

## **Erklärung**

Hiermit erkläre ich, Gundel Miethe, geboren am 11. Mai 1970 in Guben, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unerlaubte Hilfe erstellt habe.

Berlin, den